UNIVERSITE DE PARIS

FACULTE DE PHARMACIE
Série U N° 118 Paris 1946

SUR LA
COAGULATION SANGUINE

Etude de quelques-unes de ses variations

THÈSE

POUR

L'OBTENTION du DIPLOME de

DOCTEUR de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 3 juillet

PAR

Renée KISCH

Interne des Hôpitaux de Paris

Jury { MM. VALETTE, GUILLOT, FLEURY

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550026_0024

UNIVERSITE DE PARIS

FACULTE DE PHARMACIE

Série U N° 118 Paris 1946

SUR LA COAGULATION SANGUINE

Etude de quelques-unes de ses variations

THÈSE

POUR

L'OBTENTION du DIPLOME de

DOCTEUR de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 3 juillet

PAR

Renée KISCH

Interne des Hôpitaux de Paris

Jury { MM. VALETTE, GUILLOT, FLEURY

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS..... Doyen, O. ✻, ✾ I.
SOMMELET..... Assesseur, ✻, ✾ I.
H.-J. LIONNET... Secrétaire, ✾ I.

PROFESSEURS

MM. DAMIENS, O. ✻, ✾ I. ...	Chimie minérale.
SOMMELET, ✻, ✾ I.	Chimie organique.
FABRE, ✻, ✾ I.	Toxicologie.
DELABY, ✻, ✾ I.	Pharmacie chimique.
PICON, ✻, ✾ I.	Physique.
MASCRÉ, ✻, ✾ I.	Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.
N	Botanique générale.
FLEURY, ✾ I.	Chimie biologique.
N	Microbiologie.
JANOT, ✾ A.	Pharmacie galénique.
CHARONNAT, ✾ I.	Chimie analytique.
VALETTE, ✾ A.	Zoologie appliquée.
BEDEL, ✻, ✾ I.	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
GUILLOT	Professeur sans chaire.
PARIS	Professeur sans chaire.

Doyens honoraires :

MM. RADAIS, O. ✻, ✾ I. — GUÉRIN, O. ✻, ✾ I.

Professeurs honoraires :

MM. DELÉPINE, O. ✻, ✾ I., et LEBEAU, O. ✻, ✾ I., Membres de l'Institut.
PERROT, C. ✻, ✾ I., COUTIÈRE, O. ✻, ✾ I.
BOUGAULT, O. ✻, ✾ I., LUTZ, ✻, ✾ I.
GORIS, O. ✻, ✾ I., HÉRISSEY, O. ✻, ✾ I.
LAUNOY, O. ✻, ✾ I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. GAUTIER	Sciences physiques.
RAOUL	Sciences naturelles.
DAVID	Sciences naturelles.
DOMANGE, ✾ A.	Sciences physiques et chimiques.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. HARISPE, trav. pratiques de 1re année.	Chimie générale et pharmaceutique.
MORETTE, trav. prat. de 2e et 3e ann.	Chimie analytique.
CRÉTÉ	Micrographie.
CORRIEZ, ✾ A.	Physique.
Mlle LAMBIN	Microbiologie.
M. COURTOIS	Chimie biologique, Bromatologie et Pharm. chim.

Bibliothécaire en chef : M. GARNIER, ✾ A.
Bibliothécaire : Mlle LAVAUD, ✾ A.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MAMAN

Qu'elle trouve ici un gage de ma tendresse et de mon admiration pour elle.

A MA SŒUR

A MONSIEUR LE PROFESSEUR
GUILLAUME VALETTE

Pharmacien de l'Hôpital Beaujon

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Qui a bien voulu me faire l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Respectueux remerciements.

A MONSIEUR LE DOCTEUR
JEAN CHEYMOL

Pharmacien-Chef de l'Hôpital Tenon.

Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine de Paris

Qui fut pour moi un maître bienveillant, dont les conseils me furent toujours profitables.

A MONSIEUR LE DOCTEUR
JEAN FACQUET

Médecin des Hôpitaux de Paris.

Grâce à qui j'ai pu réunir une grande partie des documents nécessaires à ce travail.

A MONSIEUR RENE SASSIER

Chef du Laboratoire de Chimie Biologique
de l'Hôpital Tenon.

Qui m'a largement fait profiter de son expérience.

PLAN

I) Mécanisme de la coagulation sanguine.

II) Méthodes d'étude de ce phénomène.

A. — Techniques dans lesquelles la variable est le temps.

B. — Techniques dans lesquelles la variable est la dilution du plasma.

C. — Techniques dans lesquelles la variable est la concentration en thromboplastine.

D. — Etude photométrique de la coagulation.

E. — Etude photographique de la coagulation sanguine.

III) Méthode adoptée pour l'étude de la coagulation.

1. — Matériel.
2. — Réactifs.
3. — Thromboplastine.
4. — Technique opératoire.
5. — Critique de cette méthode.

IV) Résultats obtenus.

A/ Adultes normaux.

B/ Grossesse.

C/ Etats pathologiques.

a — ictères.

b — hémophilie.

c — tuberculose pulmonaire.

V) Application de notre méthode à l'étude de l'hypoprothrombinémie artificielle.

1. — Historique.
2. — Action générale du dicoumarol.
3. — Recherches personnelles.
4. — Antidotes.

VI) Conclusion.

VII) Index bibliographique.

INTRODUCTION

L'étude de la coagulation sanguine a fait l'objet ces dernières années de nombreux travaux.

Elle intéresse :

La biologie... son mécanime intime pour autant que nos connaissances en aient élucidé les phases successives n'est pas encore connu de façon indiscutable;

La clinique,... ses variations pathologiques s'inscrivent dans le tableau de nombreuses affections, ou dans le retentissement post-opératoire de plus d'une intervention chirurgicale;

Le laboratoire,... la possession d'un test d'appréciation de la coagulation, en dehors de l'observation grossière de ce phénomène dans un tube à essai à partir d'un prélèvement veineux, est nécessaire à la précision d'un état pathologique, à la décision d'une opération, à l'étude de l'action sur l'organisme de substances d'origine médicamenteuse ou non capables de la provoquer, de la retarder ou au contraire de l'accélérer soit *in vivo*, soit *in vitro*.

Il existe de nombreuses méthodes d'études de la coagulation sanguine. Appliquées au laboratoire elles font l'objet de techniques que nous rapportons ci-après.

Nous précisons dans ce travail une méthode d'étude de la coagulation fondée sur l'évaluation de la prothrombinémie associée à l'observation photométrique du phénomène, un dosage du fibrinogène sanguin complétant l'examen.

Nous pensons qu'elle peut permettre d'éclairer certaines interprétations de syndromes hémorragiques.

Après en avoir exposé les modalités nous présentons les divers résultats obtenus en l'appliquant à différents cas de la pathologie médicale et obstétricale.

Avant de commencer l'exposé de ce travail, nous tenons à remercier tout particulièrement de l'aide qu'ils nous ont apportée, des conseils qu'ils nous ont donnés, du patronage qu'ils ont bien voulu nous accorder :

M. le Docteur Jean Cheymol, pharmacien des hôpitaux de Paris.

M. René Sassier, chef de laboratoire de l'hôpital Tenon.

M. le Docteur Jean Facquet, médecin des hôpitaux de Paris.

Que M. le Professeur Camille Lian, médecin des hôpitaux de Paris, veuille bien trouver ici l'expression de nos vifs remerciements pour l'accueil bienveillant qu'il nous a toujours réservé dans son service et les facilités de travail qu'il nous a offertes.

Nous remercions M. le Professeur Fleury, pharmacien des hôpitaux psychiatriques de la Seine et M. le Professeur Guillot, pharmacien des hôpitaux de Paris, de l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de constituer, sous la présidence de M. le Professeur Valette, notre jury de thèse.

MECANISME DE LA COAGULATION SANGUINE

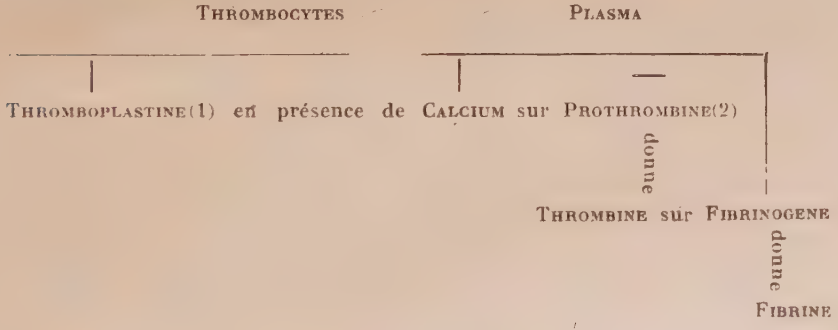
Pour faciliter l'exposé de ce travail, il convient, nous semble-t-il, de rappeler tout d'abord le mécanisme de la coagulation sanguine.

La théorie de MORAWITZ, considérée comme classique, est généralement admise à ce jour.

Il existe normalement dans la lymphe et les plaquettes sanguines, ou thrombocytes de DEKHUYZEN, une substance de nature chimique discutée la *thromboplastine* ou *thrombokinase*, et dans le plasma une autre substance la *prothrombine*.

La thromboplastine mise en contact avec la prothrombine en présence *d'ions calcium* (Ca^{++}) la transforme peu à peu en *thrombine*, *enzyme*, qui à son tour agit sur le *fibrinogène*, substance protidique du plasma sanguin, pour le précipiter de façon irréversible en fibrine insoluble.

Le tableau ci-joint (fig. 1) donne une représentation schématique du phénomène :



Soit deux réactions :

1) prothrombine + thromboplastine + calcium ➤thrombine.

2) thrombine + fibrinogène ➤fibrine.

A l'état normal ces éléments n'entrent pas en réaction réciproque : le sang circulant ne recèle aucune parcelle de fibrine : le processus de coagulation qui répond à la formation

(1) THROMBOPLASTINE = THROMBOKINASE = CYTOZYME [89].
(2) PROTHROMBINE = SEROZYME.

de fibrine est inhibé par la présence de substances anticoagulantes : l'*héparine* et l'*antithrombine* (3).

Toute plaie vasculaire ou cause d'extravasation sanguine déclenche le phénomène de coagulation qui se produit dans un délai défini appelé « *temps de coagulation* ».

Reichel [*101*] objecte à cette théorie que si les thrombocytes étaient seuls vecteurs de la thromboplastine, on ne saurait expliquer que le temps de coagulation reste normal dans certains états de thrombopénie. (Werner [*119*]).

Ses recherches ont fait du plasma sanguin le dispensateur principal de la thromboplastine; il a pu extraire du plasma et même du sérum sanguin, exsudé du plasma après coagulation, des *euglobulines* possédant des propriétés kinasiques, c'est-à-dire capables en présence d'ions calcium, (Ca^{++}) de transformer la prothrombine en thrombine. [*122*]

Par ailleurs, Widenbauer [*120-121*] et Reichel [*101*] estiment que la thromboplastine dans le sang n'existerait qu'à l'état inactif de proenzyme qu'ils nomment la *prothrombokinase* et qui correspond à la *prothrombokinine* de Lenggenhager.(4)

Cette proenzyme serait activée à la faveur d'une variation de tension de l'anhydride carbonique du sang circulant [*123*].

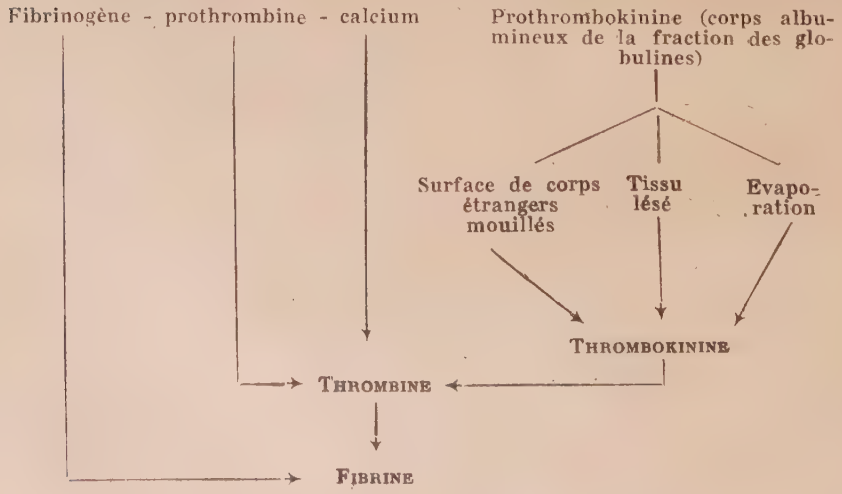
Sans négliger ces faits qui sont en cours d'étude, nous admettrons que 4 facteurs jouent un rôle essentiel dans la coagulation sanguine : *CALCIUM, FIBRINOGENE, THROMBOPLASTINE, PROTHROMBINE.*

Voici quelles sont les notions acquises actuellement quant à la nature et au rôle respectif de ces facteurs.

CALCIUM. — La présence d'ions calcium est indispensable au phénomène de coagulation, mais chez l'Homme, diverses

(3) Astrup [4] a publié en 1944 une étude très détaillée de la coagulation sanguine du point de vue biochimique.

(4) Schéma de la coagulation, selon la théorie de Lenggenhager [77].



expériences ont montré que le taux de calcium sanguin, quelles que soient ses variations pathologiques, n'avait pas de répercussions sur la coagulation, et chez le Chien, l'obtention d'une modification du temps de coagulation demande l'abaissement de la calcémie à des valeurs incompatibles avec la vie. (Selon HARNAPP [*49*] il suffit que le sang contienne 0,3 mg. d'ions Ca pour 100 cm³ pour que la coagulation puisse se produire.)

Ce calcium ionisé aurait un rôle catalytique, différent, précisons-le dès maintenant, du calcium que des théories récentes, que nous allons exposer, font entrer dans la constitution de la thromboplastine (5).

FIBRINOGENE. — Normalement, le sang contient de 3 g. à 4 g. de fibrinogène par litre (fibrinémie), il en existe également dans tous les liquides coagulables : lymphe, exsudats, transudats coagulables.

Le dosage peut être effectué de façon très simple en utilisant la technique de SASSIER (1936) que nous indiquons plus loin (p. 54). (6)

Le fibrinogène est élaboré par le foie et les affections de la cellule hépatique, entre autres, ont une répercussion sur la fibrinémie.

Du point de vue chimique, c'est une globuline spéciale précipitée par le chlorure de sodium à demisaturation et le sulfate d'ammonium au sixième ou au tiers de saturation.

Il est soluble dans l'eau ou les solutions faiblement salines tel le plasma sanguin.

JACQUES [*52*] signale son pouvoir réducteur en milieu tampon phosphaté à 25° et à pH 6,6 vis-à-vis de l'iode et de l'eau oxygénée.

La propriété sur laquelle nous devons insister est sa faculté de se transformer, sous l'influence enzymatique de la thrombine, en *fibrine*, collogel insoluble qui se dispose en fins filaments formant un réseau emprisonnant les globules.

Dans quelle mesure le fibrinogène intervient-il dans la coagulation?

Tout d'abord, il forme la trame du caillot.

La nature de celui-ci dépendra donc de la valeur qualitative et quantitative du fibrinogène.

Mais quelles sont ses répercussions directes sur la coagulation?

Certains auteurs prétendent que son taux peut s'abaisser dans de fortes proportions sans que pour cela le temps de coagulation subisse de perturbation.

LIAN, FRUMUSAN et SASSIER [*72*] concluent que dans le mécanisme complexe des troubles de la coagulation chez les hépatiques le rôle du fibrinogène est restreint.

---

(5) Selon HARNAPP [*49*] l'action catalytique du calcium dans la coagulation sanguine est prouvée par le fait que l'on retrouve la même quantité d'ions Ca ++ dans le sérum et dans le plasma.

(6) En 1944, von SZECSENYI-NAGY a publié une technique nouvelle avec précipitation de la fibrine par addition de thrombine en milieu tamponné [*112*].

Quick et également Lavergne insistent sur la question de la qualité du fibrinogène.

Plum et Larsen [*93*] signalent que l'extrême fibrinopénie peut provoquer un allongement du temps de coagulation.

THROMBOPLASTINE. — Selon les auteurs, elle est également désignée sous les noms de : *cytozyme*, ou *thrombokinase*, ou *protéïne visqueuse*.

Elle est d'origine tissulaire, globules blancs, plaquettes sanguines; les viscères en contiennent également et parmi eux surtout le cerveau — la substance grise en est plus riche que la substance blanche.

La thromboplastine est soluble dans l'eau salée, entraînée par les solvants des lipoïdes, mais l'acétone est sans action sur elle, ce fait est utilisé dans sa préparation.

Elle précipite par dilution, dialyse, et passage d'un courant d'anhydrique carbonique dans le dialysat.

Elle est éliminée en traitant le plasma par le phosphate de calcium.

Elle est détruite par chauffage à température supérieure à 60°.

Elle se présente comme une substance de nature protidique que l'on a d'abord rattachée aux phospholipides du type céphaline.

Des études de Widenbauer [*120-121*] datant de 1943 en font un complexe *euglobuline-calcium* dont l'activité est très vraisemblablement liée à la teneur en calcium.

On ne peut pas extraire le calcium de ce complexe sans en détruire l'activité et on ne peut pas non plus préparer une thromboplastine synthétique active sans adjonction de calcium.

L'addition d'oxalate de sodium ou d'ammonium ne peut déplacer le calcium de ce complexe, au contraire elle semble en renforcer la fixation.

L'action anticoagulante de l'acide oxalique vis-à-vis du sang se manifesterait donc de deux manières différentes d'une part, mobilisation du calcium sanguin normal par précipitation et d'autre part, renforcement du complexe thromboplastique euglobuline-calcium.

Keichel [*60*] en fait également une fraction euglobuline du sang.

Ferguson [*42*] d'autre part considère la thromboplastine comme une enzyme protéolytique faible du type trypsique.

Enfin, dans une publication récente (1945) Feissly [*40*] communique les recherches qu'il a entreprises pour élucider la nature et l'origine de la thromboplastine.

D'une part, en procédant à la « dissection » du plasma selon la méthode donnée par Doladilhe [*35*] pour le sérum, il a isolé une fraction qu'il nomme « *protéïne visqueuse* » [*40*] et qu'il considère comme « l'activateur » de la prothrombine.

Cette substance est *thermolabile*; ce serait selon lui un complexe protéolipidique (7).

---

(7) La nature protéolipidique des corps possédant une activité thromboplastique a également été indiquée par Chargaff [*20-21-24*].

D'autre part, il a extrait des plaquettes sanguines, par trituration au mortier, une substance thermostable — résiste à un chauffage à 100° — qu'il nomme « *thrombokinase plaquettique* » et qu'il identifie au « cytozyme lipoïdique » de BORDET.

Selon lui, le sang contiendrait donc deux substances thromboplastiques, différentes, autonomes.

PROTHROMBINE. — Elle se trouve dans le plasma — et non dans les éléments figurés du sang — sous *forme inactive* à la façon d'une proenzyme.

La thromboplastine agit sur elle pour la transformer en *thrombine active*. (ASTRUP et DARLING [*5*] ont étudié cette transformation de prothrombine en thrombine et pensent qu'il faut y voir une modification dans sa nature de globuline.)

Elle a pu être extraite du plasma par différentes méthodes [*39*] et obtenue sous une forme si purifiée qu'un milligramme de substance sèche après activation en thrombine est susceptible de coaguler un demi-litre de solution de fibrinogène en l'espace de quinze secondes.

D'après SMITH, sa teneur dans le sang serait de 35 milligrammes pour 100 cm^3.

C'est, semble-t-il, à SMITH WARNER et BRINKHOUS que revient le mérite d'avoir démontré l'origine hépatique de la prothrombine; PLUM et LARSEN [*93*] admettent également la possibilité d'une origine médullaire.

De toutes façons, il semble qu'il y ait une production continue de prothrombine, que favoriserait l'apport de vitamine K. (PLUM et LARSEN.)

C'est un protide du groupe des globulines.

D'après des travaux récents [*39*], à la protéine serait unie une copule glucidique importante : il s'agirait d'un galacto-acétyl-glucosamino-mannose.

Elle a les solubilités, les réactions de précipitation et d'adsorption des globulines.

Elle est insoluble dans les solvants des lipoïdes.

D'après les travaux de SEEGERS [*105*], la prothrombine est peu soluble, en solution aqueuse, à pH d'environ 4,9.

Son inactivation commence à pH 4,8; elle est complète à pH 3,5.

Pour les alcalis, l'inactivation commence à pH 10 (8).

En solution aqueuse, elle est partiellement inactivée par un chauffage à 40° pendant 30 minutes.

A 60°, elle est complètement détruite.

QUICK (1945) et également FEISSLY (1945) [*39*] pensent qu'il faut maintenant considérer la prothrombine comme un complexe formé par l'union de deux facteurs — facteur A et facteur B unis par le calcium pour QUICK; homoglobulines I et II pour FEISSLY, — facteurs dissociables et capables de s'unir à nouveau de façon immédiate.

Le facteur A serait détruit rapidement par oxydation dans

(8) Le pH optimum pour la transformation de la prothrombine en thrombine a été déterminé et se place entre 6,2 et 8,7 [75].

les plasmas provenant de sangs conservés, alors que le facteur B se maintiendrait longtemps dans ces mêmes plasmas.

En revanche, le facteur A se retrouverait presque intégralement dans les plasmas adsorbés par les précipités minéraux, vraisemblablement aussi dans les plasmas d'individus atteints d'avitaminose K, et également dans les plasmas obtenus après traitement à la dicoumarine (9).

Dans le sang conservé sur oxalate, la prothrombine diminue assez rapidement. D'après Adam [2], la diminution est manifeste dès la sixième heure, et l'erreur ainsi possible peut atteindre 100 pour 100.

La prothrombinémie d'un individu sain est relativement fixe (10); elle ne subit de variations qu'après les repas riches en graisses; ces variations, liées à la lipémie physiologique, à l'absorption de la vitamine K liposoluble, au rôle de la vitamine K dans le métabolisme de la prothrombine, n'excèdent cependant pas 5 pour 100.

Si l'on considère que la prothrombinémie de l'individu normal est de 100 pour 100, ses variations entre 100 pour 100 et 50 pour 100 sont sans danger, ce n'est qu'au-dessous de 40 pour 100 qu'apparaît le risque d'hémorragie, et il faut descendre au-dessous de 20 pour 100 pour entrer dans la zône des hémorragies sérieuses. Mais encore faut-il préciser que l'abaissement de la prothrombine même au-dessous de 20 pour 100 ne crée qu'un risque d'hémorragie, sans la déclencher automatiquement.

Parallèlement, sans introduire ici de relation entre taux de prothrombine et temps de coagulation, qui sont deux tests totalement différents, pour qu'il y ait une répercussion sur le temps de coagulation il faut un déficit considérable de prothrombine.

Notons d'autre part que dans l'hémophilie, le taux de la prothrombine demeure normal — entre 75 et 100 pour 100 (voir p. 74).

La diminution de la prothrombine se rencontre dans les affections diffuses et graves de la cellule hépatique, ce qui s'explique aisément étant donné le rôle du foie dans sa genèse.

Dans les ictères par rétention, la prothrombinopénie doit s'expliquer différemment. Dans ce dernier cas, il s'agit d'une carence secondaire relevant d'une mauvaise absorption de la vitamine K par la muqueuse intestinale, celle-ci étant entravée par l'acholie intestinale.

Tout récemment, Borgstrom signale une prothrombinopénie importante dans certaines affections pancréatiques aiguës [*11 bis*].

VITAMINES K [22-87]. — La découverte de la vitamine K est relativement récente. Son origine remonte à l'étude par Dam du métabolisme des lipides chez le poulet (1934).

(9) Des expériences de Oneal et Lam [*91*] (1945) ont confirmé et précisé cette hypothèse de Quick. Il faudrait donc bien à l'heure actuelle considérer la prothrombine comme un complexe résultant de l'union de deux composants.

(10) Voir p. 63 les chiffres normaux.

Soumettant de très jeunes poulets à un régime spécial privé de graisses, il s'aperçut que rapidement les animaux présentaient des hémorragies cutanées et viscérales; la mort survenait en quelques semaines, malgré l'administration des vitamines liposolubles et hydrosolubles alors connues (A, D et E; B et C).

Cette affection ne pouvait donc être rapprochée du scorbut, comme on l'avait cru.

En 1934, ADAM conclut à une *avitaminose spéciale* et appela « *Koagulation vitamin* » ou *vitamine K* la substance qui mettait fin aux accidents hémorragiques.

Elle existe dans les feuilles vertes, la tomate, les cynorhodons, le soja, les graines de chenevis, l'épicarpe de riz, la graisse de porc, le jaune d'œuf, le fromage. Par contre, l'huile de foie de morue, l'huile de germe de blé, les carottes, les citrons (substances cependant riches en vitamines) n'en renferment pas.

C'est un corps liposoluble, qui se rencontre dans la fraction étherosoluble de l'insaponifiable privé des stérols.

Pour l'extraction, on utilise surtout la luzerne (alfafa).

Dans ce cas, le produit obtenu est la VITAMINE K1.

Mais ALQUIST découvrit que de la farine séchée de poisson abandonnée à l'humidité et ayant subi un commencement de putréfaction présentait également une activité vitaminique; ceci amena la découverte de la VITAMINE K2, de constitution légèrement différente.

A côté des apports alimentaires, l'homme et l'animal disposent en quantité notable de vitamine K synthétisée par les bactéries du colon (11).

De toutes façons, que son origine soit exogène ou endogène, son absorption se fait dans la portion terminale de l'intestin et n'est possible qu'en présence de bile (12).

D'autre part, d'après CONSTANTINESCU et VASILIN [25], une série de dosages dans divers organes chez le chien a révélé une teneur appréciable en vitamine K dans les capsules surrénales.

Celles-ci joueraient donc un rôle dans la formation de cette substance, qui, dans ce cas, pourrait peut-être ne plus être considérée comme vitamine.

Une étude expérimentale a montré une teneur élevée dans le sang des diabétiques et un abaissement de ce taux après insuline; il convient donc de ne pas administrer simultanément insuline et vitamine K.

Du point de vue chimique, ces deux vitamines K1 et K2 sont bien connues.

Les premières méthodes d'extraction conduisirent à une huile physiologiquement très active. Mais bientôt (1939) de gros progrès furent réalisés, véritable éclosion de découvertes :

---

(11) SANFORD et SHMIGELSKY [*104*] en 1942 ont contesté la possibilité d'une synthèse de la vitamine K par les bactéries de l'intestin grêle à partir des aliments. Selon ces auteurs elle serait élaborée par le foie qui la formerait en dépit des conditions extrinsèques.

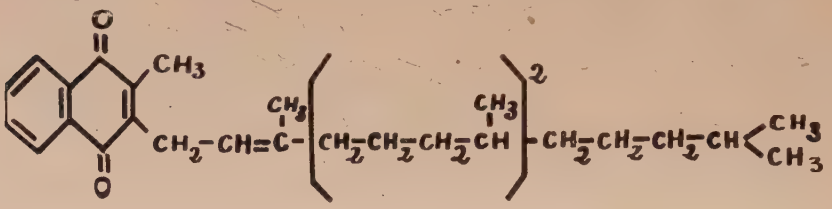
(12) Il existe maintenant des produits hydrosolubles synthétiques à activité vitaminique K pour lesquels la présence de bile n'est plus nécessaire.

Obtention de K1 et K2 à l'état cristallisé, étude de leur constitution, puis synthèse de K1.

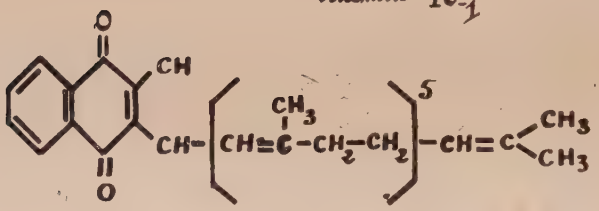
A ces divers travaux se rattachent les noms de Doisy, Dam et Almquist. La synthèse de K2 n'était pas encore réalisée en 1944.

K1 est la méthyl-2-phytyl-3-naphtoquinone 1.4.

K2 a la même structure, mais la chaîne phytyl est remplacée par une chaîne à cinq groupes isopréniques qui dériverait du squalène (13).



Vitamine K_1



Vitamine K_2

De nombreuses expériences, il résulte d'ailleurs que seule la partie 2 méthyl-1.4-naphtoquinone est active.

Du point de vue physiologique, la vitamine K agit sur la coagulation sanguine en intervenant dans le mécanisme de la formation de la prothrombine, dont elle relève le taux dans le sang (14). Mais pour que l'action de la vitamine K soit possible, il faut d'une part un bon fonctionnement de la cellule hépatique, d'autre part une bonne absorption par la paroi intestinale.

De plus, elle augmenterait la résistance des capillaires.

Nous devons signaler l'identification récente d'une *vitamine K3* préparée par Mikhlin [*85*] à partir de stigmates de maïs (1942).

SUBSTANCES ANTICOAGULANTES. — Dans le sang normal se trouveraient deux principes anticoagulants : l'*antithrombine* et l'*héparine* [*41*].

Les travaux consacrés aux syndromes hémorragiques par excès de ces substances inhibitrices sont peu nombreux.

(13) Il s'agit là de corps très voisins du *phtiocol*, 2 méthyl-3-hydroxyl-1.4-naphtoquinone, pigment du bacille tuberculeux humain doué lui aussi de propriétés antihémorragiques.

(14) La carence en vitamine K serait responsable de l'hypoprothrombinémie du nouveau-né. La sprue serait également due à une avitaminose K [*76*].

Y. Bertrand et D. Quivy signalent [7] des publications relatives à un taux élevé d'antithrombine dans la typhoïde et dans l'hyperleucocytose basophile.

Cachera [*16*] rapporte une observation clinique de Lozner, Joliffe et Taylor concernant une diathèse hémorragique provoquée par la présence d'une substance anticoagulante dans le sang.

ANTITHROMBINE. — On sait depuis longtemps que le plasma ou le sérum inactivent de grandes quantités de thrombine. Cette substance antithrombique se trouverait tout entière dans la fraction protidique du sang, mais tous les essais d'isolement du principe actif ont échoué.

Wohlisch et Kohler ont signalé que le pouvoir antithrombique de l'albumine du sérum peut être éliminé après extraction par l'éther ou le chloroforme.

Gruning [*47*] fait de l'antithrombine un lipide étroitement associé à la protéïne.

Quick préfère continuer à l'appeler « albumine X » [*97*].

De toutes façons, son rôle semble être de neutraliser l'excès de thrombine demeurant dans le sang après transformation du fibrinogène en fibrine.

D'après Cachera [*16*], elle n'entrerait en action qu'en l'absence de fibrinogène, c'est-à-dire dans le sérum, une fois le caillot formé.

HEPARINE. — Des observations faites au cours du choc peptonique ont montré que le sang était rendu incoagulable par une substance d'origine hépatique. En 1916, Howell, le premier, isola du foie de chien ce principe anticoagulant qu'il appelle *héparine*.

Il montre qu'elle se comporte comme une *antiprothrombine*.

En 1936, Quick a trouvé, cinq minutes après l'injection de peptone, l'équivalent d'un milligramme d'héparine dans 100 cm³ de sang.

Le foie constitue la source principale de l'héparine; elle y prend naissance dans les « mastzellen » — ou leucocytes à granulation d'Ehrlich —. Mais Howell a pu déceler dans d'autres organes : cœur, muqueuse utérine, sang.

Cependant, la présence de l'héparine dans le sang circulant a donné lieu à de nombreuses discussions.

D'après Quick [*97*], l'héparine elle-même n'est pas un anticoagulant. Sur un mélange de fibrinogène purifié et de thrombine, elle n'a presque aucune action inhibitrice. Il semble que l'héparine agisse par ses propriétés fortement acides, qui lui permettent de former des sels stables avec de nombreuses protéïnes.

D'après Quick [*97*], la coagulation du fibrinogène par la thrombine est inhibée grâce à la présence d'un *co-facteur* se trouvant dans la fraction protidique du plasma.

Il suppose que l'héparine s'unit à une fraction de la sérum-albumine qu'il désigne sous le nom d' « *albumine X* », pour former un « *complexe albumine X-héparine* » qui a le pouvoir

de se lier à la thrombine : il en résulte une « *puissante anti-thrombine* ».

Lorsque l'héparine est unie avec l'anti-thrombine, son action est si intensifiée qu'elle devient un anticoagulant puissant.

Seegers pense que la thrombine est détruite par l'anti-thrombine du plasma et que l'héparine accélère simplement la vitesse de réaction. Il considère l'héparine comme un catalyseur.

De nombreux travaux ont été entrepris pour déceler la nature chimique de cette substance, si importante du point de vue biologique.

Primitivement, elle fut considérée comme un phosphatide du foie, mais bientôt (1924) sa qualité d'hydrate de carbone ne fit plus aucun doute.

En 1928, Howell obtint une réaction à la naphtorésorcine positive, caractéristique des acides uroniques.

En 1935, Jorpes [*55*] a montré qu'elle avait la structure d'un polysaccharide comprenant des quantités équivalentes de glucosamine, d'acide acétique et d'un acide uronique, par conséquent édifié comme un acide *mucoïtine-sulfurique*.

Jorpes, en transformant l'héparine en sel de brucine, puis en fractionnant ce sel par dissolution dans de l'eau chaude, a pu obtenir des fractions correspondant à un acide mucoïtine di ou trisulfurique et d'autres qui peuvent être considérées comme des mélanges de ceux-ci.

La teneur en soufre du produit obtenu en partant du foie de bœuf varie entre 9 et 11 pour 100, et l'auteur insiste sur le parallélisme entre l'augmentation du pouvoir anticoagulant et l'élévation de la teneur en soufre; il n'y a cependant pas proportionnalité rigoureuse entre ces deux valeurs.

L'héparine se comporte comme un acide fort et donne des sels stables. Elle s'associe facilement aux protéïnes et à certains composés organiques de nature basique pour donner des complexes plus ou moins dissociables. C'est ainsi qu'on explique par une réaction de fixation la coloration métachromatique violette qu'elle donne avec le bleu de toluidine.

L'héparine déplace du côté acide le point iso-électrique de certaines protéïnes.

Le problème de la standardisation de l'héparine a dû être rapidement envisagé à cause de son emploi thérapeutique. Le Docteur P. Hartley prit en 1942 l'initiative d'établir un échantillon international provisoire.

Il est défini comme suit par Gautier [*46*] :

Echantillon d'héparine de bœuf (venant de l'Université de Toronto) isolée sous forme de sel de baryum, puis transformée en sel de sodium.

L'unité internationale provisoire a été définie comme l'activité spécifique correspondant à celle de 1/130 mg. de la poudre étalon.

Il n'est pas indiqué de méthode de titrage, mais il est recommandé d'utiliser de préférence une technique s'appuyant sur les propriétés biologiques anticoagulantes de l'héparine, plutôt qu'une méthode faisant appel à ses propriétés physico-chimiques.

Y. Bertrand et D. Quivy [*7-98*] ont proposé récemment

(1945) une technique de dosage de l'héparine dans le plasma.

Ils utilisent la formule de FISCHER :

$$\frac{1}{t} = k.\ C^a$$

qui exprime les temps de coagulation t en fonction des concentrations c, (k et a étant des constantes dépendant des conditions expérimentales.)

Ils notent la coagulation en tubes à la température de 37° d'un plasma oxalaté ou citraté, puis recalcifié, en présence de quantités géométriquement décroissantes d'extrait cérébral.

Les graphiques sont établis en portant en abscisses les logarithmes des concentrations, et en ordonnées les logarithmes des temps.

Ils obtiennent ainsi une droite dont la pente exprime la valeur du coefficient exponentiel a.

Normalement, $a = -0{,}24$.

In vitro, une dose constante d'héparine accentue la pente de la droite.

a est en moyenne de $-0{,}35$ pour 1 µg d'héparine.
— $-0{,}49$ pour 2 µg d'héparine.

La même augmentation a été retrouvée *in vitro* chez le chien par injection intra-veineuse de 2 mg. par kilog.

D'après les auteurs, cette méthode permettrait de différencier les retards de coagulation dus à une teneur en prothrombine insuffisante, de ceux dus à un taux d'anticoagulant excessif.

Dans le premier cas, les droites sont parallèles; dans le second, divergentes. Mais la discrimination n'est valable que dans certaines limites.

Le sang contient donc à l'état normal tous les éléments nécessaires à sa coagulation. Aussi l'organisme doit-il lutter contre la formation intravasculaire du caillot. Pour cela, il doit détruire la thrombine au fur et à mesure de sa formation.

Les auteurs proposent l'explication suivante :

Une partie de la thrombine est détruite par le foie; une autre se consomme peu à peu pour la formation de fibrine; enfin, l'élimination principale serait accomplie par le corps protidique, trouvé par LENGGENHAGER, et qu'il nomme *métathrombinogène* [77].

METHODE D'ETUDE DE CE PHENOMENE

La possibilité d'une hémorragie a, de tout temps, grandement préoccupé tant le chirurgien que l'accoucheur ou le médecin.

Comment prévoir, prévenir, enrayer cet accident aux conséquences rapidement inquiétantes? Autant de problèmes importants, mais difficiles à résoudre.

Nous ne nous occuperons ici que d'un seul aspect de la question : comment dépister chez un individu la tendance à l'hémorragie, et comment, chez un sujet en cours de traitement, suivre les modifications de la coagulabilité du sang.

En clinique, il est d'usage courant de faire appel à un certain nombre de tests renseignant sur l'aptitude du sang à coaguler ce qu'il est convenu de nommer : TEMPS DE SAIGNEMENT, TEMPS DE COAGULATION, SIGNE DU LACET.

A) Technique des lames

C'est la plus simple et la plus rapide. Elle ne nécessite pour tout matériel (si l'on excepte le stylet servant à faire la piqûre) que quelques lames de verre (généralement du type lames de microscope) soigneusement dégraissées à l'alcool-éther.

Sur l'une d'elles, on fait tomber une goutte de sang et l'on mesure le temps de coagulation. C'est-à-dire que l'on apprécie à l'aide d'un chronomètre le temps écoulé entre le moment où une goutte de sang a touché la lame et celui où, la lame étant tenue verticalement, cette même goutte de sang ne se déforme plus.

Plusieurs déterminations sont effectuées pour le même sang, en général trois.

Quoique cette méthode semble d'une simplicité extrême, elle demande cependant un opérateur entraîné, car il est délicat d'apprécier le moment précis où la coagulation se produit.

B) Technique des tubes

Elle nous paraît offrir plus de précision.

Dans ce cas, le sang est recueilli dans de petits tubes à hémolyse qui sont bouchés, puis abandonnés à la température de 15°. La coagulation est terminée lorsqu'après retournement, le caillot sanguin reste fixé au fond du tube.

Avant l'usage, il faut prendre la précaution de porter les tubes au rouge sombre (1).

C) Technique des capillaires

Le sang est aspiré dans de petits tubes capillaires qui sont ensuite fermés à la lampe, puis placés au bain-marie à 37°.

Pour apprécier la coagulation, il faut casser le capillaire et noter le moment où il reste entre les deux fragments un petit filament fibrineux.

Cette méthode, plus complexe que les deux précédentes, ne nous semble pas présenter sur elles de réels avantages.

Elle n'est ni rapide, ni commode.

Pratiquement, il est de notion courante, pour les examens cliniques préopératoires, de se contenter, au cours du prélèvement de sang pour le dosage de l'urée, de noter l'intervalle de temps entre le prélèvement et la prise en masse du sang dans le tube à essai, méthode grossière qui suffit cependant à l'appréciation des limites normales, et qui, devant une durée de coagulation anormalement allongée, amène à utiliser un test plus précis.

Quoi qu'il en soit, voici les renseignements cliniques que le médecin peut tirer de ces divers examens.

Normalement :

— La coagulation se produit entre la 5e et la 8e minute.
— Une coagulation dépassant 15 minutes est pathologique.
— Après une heure, il s'agit d'hémophilie grave.
— Dans les états hémogéniques, la coagulation est peu retardée : 12 à 15 minutes.

Nous indiquerons maintenant deux autres techniques, déjà anciennes puisque l'une date de 1917 et l'autre de 1914, et qui furent en quelque sorte les premiers essais de perfectionnement en vue de l'étude de la coagulation sanguine.

---

(1) Nous-mêmes préférons une autre technique de nettoyage que nous indiquerons p. 48.

Procédé d'Achard et Binet [4]

Il nécessite deux boîtes de Pétri qui sont disposées comme l'indique la figure 2.

fig. 2

La boîte centrale contient de l'huile de vaseline, la boîte périphérique de l'eau à 15°. Ce dispositif a pour but de diminuer les erreurs venant de la mise en contact direct du sang avec les parois d'un récipient quelconque.

Le doigt du patient est enduit d'huile de vaseline, piqué avec un vaccinostyle et plongé aussitôt dans la boîte centrale.

Le moment où la goutte de sang tombe dans l'huile est noté, puis, de minute en minute, un tube capillaire est mis en contact avec le sang.

Tant que celui-ci est liquide, il monte dans le tube. La partie effilée remplie par la colonne rouge est brisée, et le reste du capillaire sert à faire une nouvelle exploration. Lorsque la coagulation s'est produite, le sang ne monte plus.

Chez l'adulte normal, le temps est de 10 à 14 minutes.

Technique de Marcel Bloch [9-10]

Elle s'avère plus compliquée, puisqu'elle nécessite une ponction veineuse. Elle consiste à étudier la coagulation du sang, citraté, en lui rendant son activité par addition d'un sel calcique.

Dans un premier temps, le sang est dilué et citraté, directement à sa sortie du vaisseau, dans le rapport :

Sang	1 cm³
Citrate de sodium	1 cg.
Solution de chlorure de sodium à 0,70 g. p. 100.....	4 cm³

Le mélange ainsi obtenu est réparti à raison de 0.2 cm³ dans une série de petits tubes contenant des doses croissantes de

chlorure de calcium (0,1; 0,2; 0,3 cm³... 1 cm³ d'une solution à 0,5 g. pour 100).

Le volume est uniformisé à 4 cm³ avec la solution de chlorure de sodium à 0,70 pour 100.

Le tout est laissé au repos (12 à 15 heures).

Dans les premiers tubes contenant des doses minimes de calcium, se produisent des ébauches de caillot, ce que l'auteur appelle le SEUIL DE LA COAGULATION (en général, les premiers filaments apparaissent dans le 3e ou le 4e tube) ; dans les tubes où la quantité de calcium est suffisante, la coagulation est complète (en général 9e tube).

La série des tubes donne donc l'image des propriétés coagulantes de chaque sang.

L'auteur détermine alors pour chaque tube le rapport :

$$\frac{\text{citrate de sodium}}{\text{chlorure de calcium}}$$ qu'il appelle *indice* (2).

Pour un individu normal, le seuil de la coagulation se produit dans le tube d'indice 2; la coagulation est complète dans celui d'indice 1.

Les tubes montrent en outre les qualités mécaniques du caillot : rétractilité normale, hyporétractilité ou irrétractilité.

Ce procédé permet également de déceler l'existence de l'hypercoagulabilité sanguine (précocité du seuil et de la coagulation complète, hyperrétractilité).

De l'examen de toutes ces méthodes, il ressort qu'aucune n'est susceptible d'indiquer clairement *pourquoi* le sang coagule plus ou moins rapidement.

Elles ne permettent en aucun cas de déceler l'origine du trouble, ni même de préciser son importance réelle. Elles ne peuvent servir que d'éléments d'alarme.

Aussi, depuis un certain nombre d'années déjà, s'est-on attaqué à l'étude des troubles de la coagulation, afin de mettre à la portée du clinicien un moyen d'investigation aussi satisfaisant que possible.

En 1914, HOWEL étudie les troubles de la coagulation du plasma des hémophiles à l'aide d'une technique particulière de recalcification du plasma oxalaté.

Celle-ci est reprise, et modifiée, par GRAM, en 1920. Puis, en 1926, HOWEL et CÉKADA trouvent que dans l'hémophilie, la prothrombine est normale qualitativement et quantitativement, mais ils n'arrivent pas à une interprétation de l'épreuve décrite antérieurement.

Plus tard, BANCROFT, KUGELMASS et STANLEY BROWN, LEWISOHN établissent un index de prothrombine sur la base de l'ancienne méthode de HOWEL. RODÉRICK utilise le test de HOWEL pour l'étude de la pathogénie de la maladie du sainfoin (3).

(2) Tous les tubes contiennent 0,4 mg. de citrate de sodium et des quantités de chlorure de calcium allant de 0,05 mg. à 0,50 mg. Les indices des tubes successifs s'échelonnent donc de 8 (pour le premier) à 0,8 (pour le dernier).

(3) Voir page 79.

Enfin, NYGAARD utilise le temps de recalcification comme épreuve générale de la coagulation.

Mais c'est à QUICK [*95*] que revient le mérite d'avoir publié en 1935 une technique simple et rationnelle du dosage de la prothrombine. Il est le premier à avoir établi nettement une relation de cause à effet entre le taux de prothrombine sanguine et le temps de coagulation. La même année, SCHONHEYDER [*29*] élaborait également un procédé pour l'examen du sang d'oiseau.

En 1936, WARNER, BRINKHOUS et SMITH [*118*] donnaient « *leur méthode des deux degrés* ».

A partir de ce moment, les travaux sont de plus en plus nombreux, et parmi les principaux auteurs il faut citer : DAM et GLAVIND [*29*], THORDARSON [*113*], PLUM et LARSEN [*93*], KUGELMASS [*62*], et parmi les Français : LIAN, FRUMUSAN et SASSIER [*72*], P. MEUNIER [*79*], LAVERGNE [*63*].

Pour tous, comment se posait le problème? Déterminer le taux de la prothrombine, puisque ce facteur paraissait l'un des plus souvent responsables des troubles de la coagulation sanguine.

Il est théoriquement possible d'effectuer un dosage pondéral de la prothrombine après précipitation et purification.

Ceci présenterait en réalité de grosses difficultés, tant du fait de la très faible quantité existant dans le sang que du fait de l'incertitude d'une précipitation quantitative.

Les auteurs ont donc recours à des procédés indirects. Ils utilisent tous l'action coagulante de la thrombine sur le fibrinogène.

Ils observent la coagulation du sang examiné dans certaines conditions, bien déterminées par eux. Il faut remarquer que toutes ces techniques présentent un caractère *nettement empirique*, que même celles qui paraissent les plus simples sont très délicates, demandent beaucoup de soins et ne sont pas à l'abri de certaines causes d'erreur.

En effet, le processus de coagulation peut se trouver modifié par la présence dans le sang de substances qui peuvent la retarder ou même l'inhiber (travaux de LOZNER, JOLIFFE et TAYLOR).

La vitesse avec laquelle la prothrombine se transforme en thrombine peut varier.

Enfin, la teneur en fibrinogène n'est pas sans jouer un rôle.

Ce sont ces raisons qui contraignent à utiliser les techniques selon un rite absolument invariable dans les moindres détails, afin de pouvoir comparer les résultats entre eux.

C'est seulement en respectant scrupuleusement les directives de l'auteur que l'opérateur est assuré d'une sécurité et d'une précision suffisante.

Si nous mettons à part les méthodes utilisant l'examen photométrique du plasma, toutes les autres peuvent être classées en trois grandes catégories, leur but commun étant la détermination du taux de prothrombine.

Le problème est complexe. Quatre éléments : calcium, fibrinogène, thromboplastine, prothrombine, interviennent dans le phénomène de la coagulation sanguine.

Celui-ci, d'autre part, ne se produit pas instantanément : sa réalisation demande un certain *temps*.

L'un de ces cinq facteurs : la prothrombine, nous intéresse particulièrement; il faudra l'évaluer en utilisant les autres ou en éliminant leurs variations.

Les variations possibles de la calcémie se trouvent automatiquement annihilées par la recalcification pratiquée par tous les auteurs, et qui les place dans des conditions opératoires optima.

La question du fibrinogène est réglée de deux manières différentes : les uns négligent les variations de ce facteur, disant qu'il se trouve toujours en quantité suffisante pour permettre la coagulation; les autres additionnent les plasmas à étudier d'une quantité déterminée de fibrinogène.

Il ne reste donc que trois variables :

— Le temps de coagulation,
— Le taux de prothrombine,
— La quantité de thromboplastine.

Il est facile de fixer deux d'entre elles arbitrairement et, à l'aide des variations de la troisième, de déterminer le taux de prothrombine.

Dans une première série de techniques, les variations dues à la thromboplastine sont éliminées par addition d'un gros excès de cette substance, et les variations de temps permettent de calculer le taux de prothrombine.

Dans une deuxième série de techniques, on fait varier le taux de prothrombine inconnu par dilution du plasma à étudier, afin de provoquer la coagulation en un temps fixe en présence d'un excès connu de thromboplastine.

Dans une troisième série, on fait varier la concentration en thromboplastine, de façon à provoquer la coagulation en un temps fixé à l'avance.

Voici les trois types de méthodes différentes qu'il est facile de comparer dans le tableau n° 1 :

Techniques	Dilution du plasma	Concentration en thromboplastine	Temps
Quick	constante	constante	*variable*
Warner	*variable*	constante	constante
Schonheyder	constante	*variable*	constante

Tableau N° 1. — *Les trois types de techniques pour le dosage de la prothrombine.*

Nous allons maintenant analyser brièvement quelques-unes d'entre elles.

A. — Techniques dans lesquelles la variable est le temps

1° Technique de Quick [95] (1935).

La coagulation s'effectuant de la façon suivante :

1) Ca + prothrombine + thromboplastine → thrombine.
2) Thrombine + fibrinogène → fibrine.

Quick considère que calcium et fibrinogène sont toujours en quantité suffisante pour assurer la coagulation.

Les variables se ramènent à prothrombine et thromboplastine.

Si l'on ajoute au plasma une quantité de thromboplastine optima, seule la teneur en prothrombine influencera la réaction et agira sur le temps de coagulation.

La méthode consiste donc en une mesure de ce temps, mais dans des conditions bien déterminées.

9 cm³ de sang sont prélevés par ponction veineuse, et reçus directement dans un vase contenant 1 cm³ d'oxalate de sodium 0,1 M. (c'est-à-dire en solution à 1/10 molécule-gramme par litre, soit 13,4 grammes par litre du sel cristallisé).

Le mélange est aussitôt centrifugé, puis le plasma décanté.

Dans un tube à hémolyse placé dans un thermostat à 37°, sont introduits à la pipette successivement :

Plasma	0,1 cm³
Emulsion de thromboplastine	0,1 cm³
Solution de chlorure de calcium 0,025 M.	0,1 cm³

Tous les réactifs sont réchauffés au préalable au bain-marie à 37°.

Au moment de l'addition du chlorure de calcium, le chronomètre est mis en marche, et la coagulation est suivie par inclinaison du tube chaque seconde, jusqu'à la formation d'un caillot solide, adhérant aux parois du tube. Le chronomètre est alors stoppé.

Le temps écoulé est noté. Le chiffre est rapporté à une courbe étalon qui donne le taux de prothrombine.

Quick prépare sa thromboplastine à l'aide de cervelles de Lapins (4) [*96*].

2° Techniques de Plum et Larsen [93].

Les deux méthodes données par ces auteurs (1941) ne sont en réalité que des variantes de celle de Quick. Seulement, elles

(4) Voir préparation de la poudre de thromboplastine p. 51.

présentent l'avantage d'utiliser du sang capillaire et en très faible quantité, d'où leur emploi en clinique infantile.

a) *Méthode rapide utilisant du sang capillaire à la température de la pièce.*

C'est une micro-méthode nécessitant une pipette spéciale décrite par l'auteur.

La pipette porte un trait de jauge indiquant 0,2 cm³ et un autre 0,3 cm³.

On commence par aspirer du liquide de Ringer jusqu'au trait 0,2, puis directement le sang (obtenu par piqûre au talon chez le nourrisson; à la pulpe du doigt chez l'adulte); jusqu'au trait 0,3 cm³.

Le prélèvement est donc de 0,1 cm³ de sang.

Le mélange est chassé dans un tube à réaction, puis additionné d'une goutte de tromboplastine — mesurée avec un compte-gouttes normal; à ce moment, le chronomètre est déclenché et le reste des opérations est identique à la technique de Quick, mais s'effectue à la température de la pièce.

Dans ces conditions — avec de la thromboplastine préparée selon la technique Dam-Glavind (5) [*29*] — l'auteur donne comme temps de prothrombine normal 25 à 30 secondes.

Dans une communication primitive, Plum et Dam faisaient la dilution partie avec du liquide de Ringer, partie avec une solution d'héparine. Ils abandonnèrent l'héparine, la présence d'un anticoagulant n'étant pas nécessaire du fait de la grande dilution.

Aux objections élevées quant aux variations de température, les auteurs répondent que dans une chambre de malade, ou dans un laboratoire, la température est toujours très voisine de 20°.

b) *Méthode à température constante avec sang capillaire.*

Dans ce deuxième cas, les auteurs utilisent une solution anticoagulante :

Solution de citrate de sodium à 0,3 g. pour 100 isotonisée par addition de chlorure de sodium à 0,78 g. pour 100 (6).

C'est avec cette solution que sera remplie la pipette (0,2 cm³) et non plus avec du liquide de Ringer.

Le prélèvement est identique.

Le sang est ensuite recalcifié à l'aide d'une solution à 1 pour 100 de chlorure de calcium cristallisé avec deux molécules d'eau.

Comme dans la méthode de Quick, toutes les opérations s'effectuent au bain-marie à 37°.

---

(5) Voir p. 38.

(6) Les auteurs n'indiquent pas s'il s'agit de 100 g. ou de 100 cm³ ni s'il faut entendre 100 p. de solvant ou 100 p. de la solution totale.

Cette remarque est valable pour plusieurs techniques qui vont suivre.

Pour un individu normal, PLUM et LARSEN indiquent un temps de 18 secondes.

c) *Méthode pour le sang veineux.*

La prise de sang est faite dans la proportion de 1 partie de sang pour 2 parties de solution citratée (*cf.* ci-dessus). Puis, sur 0,3 cm³ du mélange on procède exactement comme pour le sang capillaire.

Les auteurs insistent principalement sur deux avantages de leur technique :

1) La coagulation est observée de façon plus précise dans le mélange clair que dans le sang non dilué ou le plasma;

2) Dès écarts avec la normale donnent une plus grande différence que lorsque l'on emploie de faibles dilutions.

Etant donné les difficultés de conservation de la thromboplastine non desséchée de DAM et GLAVIND, ils conseillent l'emploi de la préparation seulement desséchée, sans emploi d'acétone.

3° Technique de Bernardino Rovatti [103].

Peut-être encore plus que les précédentes, elle est calquée sur celle de QUICK, dont elle ne diffère que par les *titres des réactifs* et l'emploi de *matériel paraffiné*. Elle date de 1942.

Nous ne donnerons donc pas le mode opératoire.

— L'anticoagulant est une solution d'oxalate de sodium M/20 isotonisée par addition de *chlorure de sodium* (elle est employée dans la proportion de 1 partie pour 9 parties de sang).

— La solution calcique est une solution M/90 de *chlorure de calcium anhydre*.

— Pour les dilutions de plasma : soluté physiologique contenant 1 cm³ de solution d'oxalate de sodium M/20 pour 100 cm³.

— Sa thromboplastine est un extrait aqueux à 15 pour 100 de substance cérébrale dans de l'eau salée; elle est chauffée 20 minutes à 56° pour inactiver la thrombine.

La valeur qu'il indique comme normale avec cette méthode est de 17 secondes.

4° Technique de J. Lehmann [65].

L'auteur a mis au point en 1941 une micro-méthode et une macro-méthode qui s'exécutent de la même manière et en suivant le procédé de QUICK.

Elles ne diffèrent l'une de l'autre que par le prélèvement, et de la méthode de QUICK que par les titres des réactifs.

a) *Micro-méthode.*

Piqûre au talon et prélèvement immédiat dans une pipette de 0,1 cm³ contenant déjà 0,02 cm³ de solution anticoagulante. Le mélange est aussitôt placé dans de l'eau glacée.

b) *Macro-méthode.*

Ponction veineuse.

6 parties de sang pour 2 parties d'anticoagulant.

Les réactifs sont les suivants :

Solution de chlorure de sodium à 0,9 g. pour 100,

Solution anticoagulante à 3.7 g. pour 100 de citrate de sodium à 2 OH_2.

Solution recalcifiante à 0,50 g. pour 100 de chlorure de calcium,

Thromboplastine de cerveau humain desséché, mais non traité à l'acétone.

L'émulsion est filtrée sur gaze après passage au bain-marie, et non centrifugée.

5° Technique de Fiechter [43].

C'est une micro-méthode, mais qui, au lieu d'utiliser des tubes à hémolyses, se pratique dans *des verres de montre* placés sur un bain-marie à 38°-40° (1940).

Le sang est prélevé par piqûre et aspiré dans une pipette jaugée à 0.15 cm^3, à raison d'une partie de solution d'oxalate de sodium M/40 et 9 parties de sang.

Le mélange est projeté dans un petit verre de montre placé au bain-marie.

On ajoute alors successivement :

— 0,15 cm^3 de solution de thromboplastine,

— 0,15 cm^3 de solution de chlorure de calcium M/40.

Le mélange est agité.

Il est nécessaire de chauffer au préalable à 38° les solutions employées.

6° Technique de J.-P. Soulier [109].

Cette technique toute récente (1944) est une adaptation de la méthode de Quick à la coagulation sur lame.

Sur une lame dégraissée et rigoureusement propre, deux gouttelettes de thromboplastine sont déposées à l'aide d'une pipette Pasteur.

Le sang est prélevé par piqûre (au talon chez le nourrisson; au doigt chez l'adulte). Lorsque la goutte de sang atteint un volume double au minimum de la gouttelette de thromboplastine, on met en contact les deux gouttes, en tenant horizontalement la lame.

Le contact des deux gouttes marque le début de la mesure; un aide déclenche le chronomètre.

Immédiatement, avec un agitateur tenu à portée de la main, les deux liquides sont mélangés intimement, ce qui, d'autre part, étale la goutte pour permettre la lecture.

La lecture se fait sur la lame retournée, pour éviter les reflets lumineux sur la convexité de la goutte.

On bascule régulièrement la lame sur un fond blanc, jusqu'à ce que le centre de la goutte s'immobilise brusquement. Ceci marque la fin du dosage.

Pour transformer ces temps de prothrombine en taux de prothombine, l'auteur indique :

Soit le procédé de SMITH :

$$\text{indice de prothrombine égale} \frac{\text{temps du malade}}{\text{temps du témoin}} \times 100,$$

Soit celui de QUICK.

Dans le cas de ce deuxième procédé d'interprétation, J.-P. SOULIER trace des courbes d'étalonnage à différentes températures. Selon le temps obtenu avec le témoin, on utilisera l'une ou l'autre de ces courbes, qui sont au nombre de dix, les temps de prothrombine variant en général entre les valeurs extrêmes : 20 et 30 secondes.

B. — Techniques dans lesquelles la variable est la dilution du plasma

1° Technique de Warner, Brinkhous et Smith [118] (1936).

Ces auteurs s'appliquent à respecter dans leur méthode la succession des deux phases de la coagulation :

a) Formation de la thrombine;
b) Coagulation du fibrinogène.

Ils suppriment ainsi les erreurs dues à des variations dans la rapidité de la transformation de la prothrombine en thrombine.

La première phase est provoquée par addition de calcium et de thromboplastine au *plasma défibriné*.

Dans le deuxième temps, la thrombine formée, le plasma est mis en présence d'une solution de fibrinogène.

On cherche la dilution de plasma qui, dans des conditions bien déterminées, coagule le fibrinogène en *15 secondes*, et on en déduit sa teneur en prothrombine.

Voici le mode opératoire, qui est long et assez compliqué. Nous l'avons divisé en quatre parties, afin d'en faciliter l'exposé.

A. — *Préparation de la solution de fibrinogène.*

Un plasma quelconque est traité par de l'hydroxyde d'aluminium — pour éviter l'entraînement de la prothrombine lors de la précipitation du fibrinogène, — puis précipité par du sulfate d'ammonium à saturation.

Le précipité est purifié par dialyse, puis remis en solution saline.

B. — *Préparation de la solution de thrombine.*

1 cm³ de plasma citraté *quelconque* est additionné de :
3 gouttes de solution recalcifiante,
6 gouttes de solution de chlorure de sodium à 0,85 p. 100,
Quelques gouttes d'extrait thromboplastique de poumon de chien.

Le plasma coagule. Le sérum, riche en thrombine, est recueilli.

C. — *Défibrination du plasma à étudier.*

Une quantité déterminée du plasma à examiner est additionnée de quelques gouttes du sérum obtenu précédemment.

La fibrine précipite. Elle est séparée.

Le liquide résiduel est alors dilué au 1/20, 1/30 et 1/40 avec une solution saline oxalatée (oxalate de sodium 75 mg. pour 100).

D. — *Mesure du taux de prothrombine.*

3 parties de chacune des dilutions obtenues en C sont alors mélangées avec :

3 parties de solution recalcifiante et

3 parties de la préparation de thromboplastine.

Repos pendant quelques minutes.

12 gouttes du mélange sont alors mises en présence de 9 gouttes de la solution de fibrinogène (A).

Le temps de coagulation est mesuré au chronomètre et l'on cherche à établir la dilution, qui, à 28°, coagule la solution de fibrinogène en 15 secondes.

Les dilutions étant de 1/149, 1/197, 1/223, le taux est exprimé en unités de prothrombine par rapport à la dilution utilisée.

2° Technique de Thordarson [113].

O. Thordarson publia en 1940 une technique dans laquelle il détermine le temps de coagulation du plasma oxalaté — convenablement dilué — vis-à-vis d'une solution de fibrinogène contenant un excès de thromboplastine et une quantité optima de calcium.

Les déterminations sont faites au bain-marie à 37°.

Le sang est recueilli sur oxalate de potassium dans la proportion de 20 mg. pour 10 cm³, puis centrifugé.

Le plasma est alors dilué à l'aide d'une solution tampon de diéthylbarbiturate de sodium (pH = 7,4), de façon à obtenir les dilutions suivantes :

4 pour 100; 3 pour 100; 2,5 pour 100; 2 pour 100; 1,5 pour 100; 1 pour 100.

Dans le bain-marie à 37°, sont placés les tubes nécessaires pour contenir ces plasmas; dans chacun, sont ajoutés :

0,3 cm³ de solution de fibrinogène,

0,3 cm³ de solution recalcifiante (0,60 g. de chlorure de calcium et 0,40 gr. de chlorure de sodium pour 100 cm³ de solution tampon),

0,3 cm³ de solution de thromboplastine (poumon de bœuf),

0,3 cm³ de solution tampon de diéthylbarbiturate de sodium.

Lorsque ce mélange est chaud, on ajoute 0,3 cm³ de plasma dilué.

Le temps est mesuré à partir de cette dernière addition.

La solution de fibrinogène est préparée avec du plasma de bœuf par précipitation au sulfate d'ammonium. Le précipité est remis en suspension dans une solution saline oxalatée, puis celle-ci est dialysée. Elle doit être conservée à la glacière.

La solution de thromboplastine est un extrait aqueux de poumon de bœuf.

Calcul du taux de prothrombine.

L'auteur a construit une courbe standard en utilisant comme premier sang témoin le sien propre.

Sur un même graphique, il porte pour chaque détermination la courbe standard et celle obtenue avec le sang à étudier.

L'examen du graphique suivant (fig. 3) expliquera de quelle manière on détermine le taux cherché.

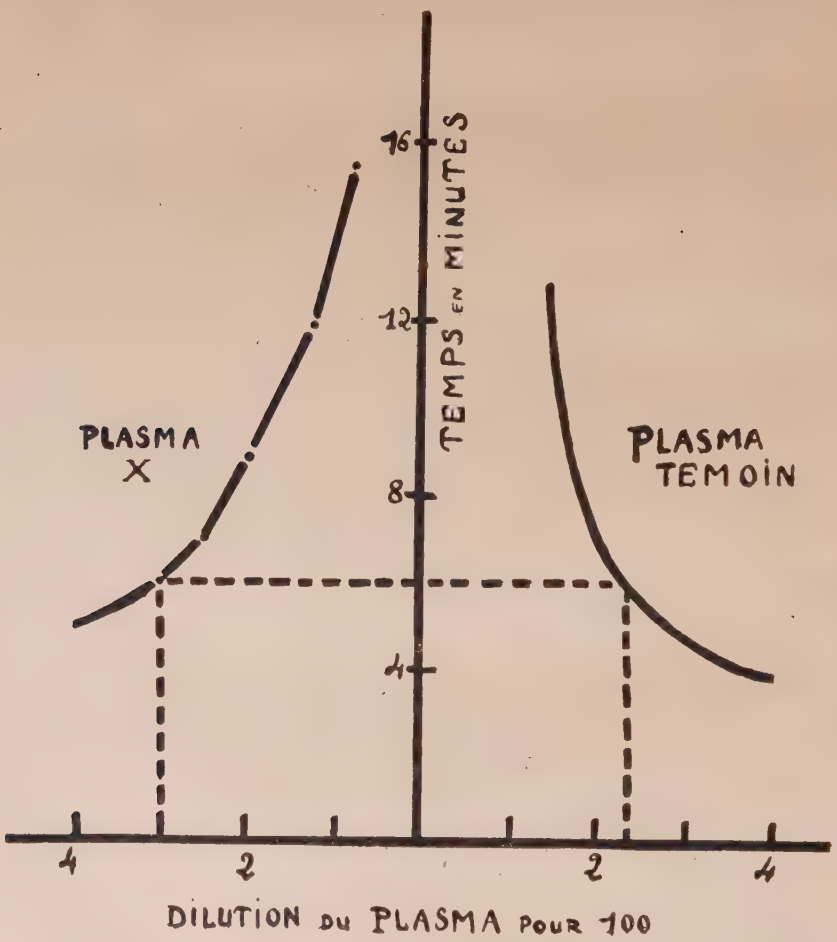


Fig. 3

Nous voyons que la concentration de 3 pour 100 du plasma X correspond à 2,4 pour 100 du plasma étalon.

Le taux de prothrombine est dans ce cas :

$$\frac{2{,}4 \times 100}{3} = 80$$

Dans cette méthode, les temps s'évaluent en *minutes* et non plus en secondes, ce qui dans certains cas peut présenter un avantage.

THORDARSON, BEGTRUP et HANSEN [*115*] modifièrent cette technique en 1943. Ils y apportèrent une simplification en remplaçant la solution de fibrinogène, si difficile à préparer et à conserver, par du plasma humain ou bovin déprothrombiné par adsorption sur hydroxyde d'aluminium.

La suspension d'hydroxyde d'aluminium est faite dans la solution de diéthylbarbiturate de sodium (solution de MICHAËLIS, modifiée par THORDARSON), à raison de 5 g. pour 20 cm³.

3° Technique de Lavergne [63].

Cette méthode, publiée en 1942 par H. LAVERGNE et Mme B. LAVERGNE-POINDESSAULT, est très proche de la méthode modifiée de THORDARSON.

Elle nous paraît d'un maniement plus aisé.

Les auteurs utilisent du plasma déprothrombiné qu'ils préparent de la façon suivante :

Du sang humain est recueilli sur oxalate de sodium, à raison de 9 cm³ de sang pour 1 cm³ de solution d'oxalate de sodium N/10.

Le tout est refroidi à 0° et centrifugé. Puis, le plasma est agité un quart d'heure à 0° avec de l'hydroxyde d'aluminium (2 g. pour 10 cm³ de plasma), centrifugé puis décanté.

L'opération est répétée une deuxième fois.

Après vérification de l'absence de toute prothrombine, les auteurs procèdent alors de la façon suivante :

Dans un bain-marie à 37° :

Plasma à étudier dilué généralement au quart avec du soluté physiologique	0,1 cm³
Plasma déprothrombiné	0,1 cm³
Thromboplastine 1 p. + Cl_2 Ca N/20 1 p.	0,1 cm³

Le résultat est ensuite comparé à une courbe d'étalonnage construite en diluant un plasma témoin au 1/4, au 1/8, au 1/16, au 1/32.

La courbe étalon est voisine de celle de QUICK.

L'intérêt de cette méthode est de permettre, grâce à l'emploi de plasma dilué, une meilleure appréciation des taux de prothrombine situés dans la zone de 50 pour 100 à 100 pour 100.

C. — Techniques avec concentration en thromboplastine variable

Leur principe, dû à Fischer, est le suivant :

Ajouter à un volume de sang déterminé une quantité de thromboplastine telle que la coagulation se produise en un temps donné fixe.

C'est Schonheyder qui le premier mit au point la technique pour l'étude du sang d'oiseau.

Dam et Glavind [29] l'ont reprise et modifiée, pour l'appliquer à l'examen du sang de mammifère (1938).

1° Technique pour le sang d'oiseau.

Le sang prélevé dans l'artère carotide est recueilli dans des tubes à centrifuger paraffinés.

Après centrifugation, le plasma est dilué à parties égales avec de la solution de Ringer; 4 gouttes du mélange sont introduites dans un tube à hémolyse avec 1 goutte d'extrait tissulaire (7).

Le tube est placé dans un support à l'intérieur d'un thermostat réglé à 39°; à intervalles de 15 secondes, il est retourné, jusqu'au moment où son contenu adhère à la paroi.

En utilisant des concentrations différentes d'extrait tissulaire, on cherche quelle est celle qui provoque la coagulation en trois minutes, soit K; si la concentration correspondante pour un plasma normal est Kn, le rapport $R = K/Kn$ mesurera la déviation du pouvoir de coagulation du plasma étudié à partir de la valeur normale.

R = 1 pour une coagulation normale.

R sera élevé quand le pouvoir de coagulation sera bas.

2° Technique pour le sang humain.

Ici, la présence d'un anticoagulant pour faire le prélèvement est nécessaire. Les auteurs ont choisi l'héparine qui, si elle n'est pas utilisée en trop grande quantité, ne modifie pas les caractères particuliers du plasma.

L'opération se fait en deux temps.

a) *Préparation de l'extrait tissulaire.*

De la substance grise d'un cerveau humain est broyée au mortier avec un poids égal de sable et la même quantité de solution de Ringer ou d'une solution similaire sans phosphate

(7) Dam et Glavind ne donnent pas d'indication sur la nature de cet extrait tissulaire.

ni bicarbonate. Puis on procède à une centrifugation de durée convenable pour obtenir un liquide laiteux; si elle est trop longue, le liquide clair est à peu près inactif.

Ce liquide laiteux est filtré sur coton, puis réparti en ampoules de 0,5 cm³ avec une pipette-seringue de KROGH.

Pendant le remplissage, il faut maintenir le liquide dans l'eau glacée et l'agiter. Les ampoules scellées seront conservées au frigidaire.

b) *Détermination de K.*

Une ampoule est réchauffée à la température de la pièce et son contenu transvasé dans un flacon exactement jaugé à 5 cm³.

L'ampoule est lavée plusieurs fois avec de la solution de RINGER et les liquides de lavage versés dans le flacon, qui est ensuite complété à 5 cm³ avec la même solution.

Le liquide obtenu correspond à une dilution au dixième du contenu de l'ampoule. Il est utilisé pour préparer les dilutions suivantes :

5 pour 100; 2,5 pour 100; 0,5 pour 100;
0,25 pour 100; 0,1 pour 100; 0,05 pour 100.

Le sang prélevé à une veine du bras avec une aiguille de platine paraffinée est reçu directement dans des tubes à centrifuger, jaugés à 4 cm³ et contenant 0,2 cm³ d'une solution à 5 pour 100 d'héparine pure.

Les tubes sont alors doucement agités, refroidis dans de la glace, puis centrifugés 5 minutes, le plasma décanté.

Puis on introduit dans un microtube, à l'aide de pipettes donnant 20 gouttes au cm³ :

4 gouttes de plasma pur ou dilué à parties égales avec de la solution de RINGER,

1 goutte de la dilution d'extrait tissulaire.

Le tube est placé dans le thermostat et la suite des opérations s'effectue de la même manière que dans la technique pour le sang d'oiseau.

La concentration *K* est déterminée graphiquement au moyen de papier logarithmique sur lequel sont portés en ordonnées les temps de coagulation en secondes, et en abscisses les concentrations d'extrait tissulaire.

La détermination doit être faite dans les 30 minutes qui suivent la prise de sang, l'extrait tissulaire conservé à 3° pendant la durée de l'expérience.

La valeur moyenne pour un adulte normal est :

$$Kn = 0{,}069$$

Les valeurs de R comprises entre 0,5 et 2 sont considérées comme normales par les auteurs, ces petites variations étant liées à la précision plus ou moins grande avec laquelle a été déterminé le chiffre témoin.

Dans les hépatites aiguës, R varie entre 2 et 3.

Dans les ictères par obstruction, R est supérieur à 5.

Toutes les fois que R est plus grand que 5, le malade court le risque d'une hémorragie.

L'auteur indique que la réduction du nombre des plaquettes n'atteint pas K, qui reste identique à celui d'un plasma normal.

L'addition d'héparine, par contre, se manifeste par une augmentation de R.

L'auteur insiste sur la nécessité d'utiliser un extrait tissulaire préparé avec une espèce animale homologue ou voisine de celle dont on étudie le plasma, ce qui prouve la spécificité de ces extraits.

Cette méthode ne présente pas en elle-même un gros intérêt pour la détermination du taux de prothrombine, mais il est bon de la rappeler, car elle a permis à Dam de suivre les anomalies de la coagulation au cours de ses recherches sur les carences en vitamine K.

D. — Etude photométrique de la coagulation en vue du dosage de la prothrombine

Nous allons décrire dans ce chapitre des méthodes totalement différentes des précédentes.

Il est bien évident que la formation du caillot solide comme test de prothrombine présente quelque imprécision, puisque les qualités mécaniques de ce dernier sont liées au taux de fibrine.

Les auteurs que nous allons citer maintenant ont observé la formation progressive du gel de fibrine, au lieu de se contenter du phénomène global du caillot solide. Pour cela, ils ont eu recours à la *photométrie.*

C'est N. Kugelmass [*62*], en 1923, qui semble avoir été le premier à mesurer les variations de la lumière transmise par un plasma en voie de coagulation.

Mais cet auteur, comme Baldès et Nygaard plus tard, a opéré sur du plasma oxalaté. Dans ce cas, au moment de la recalcification, il se produit un précipité d'oxalate de calcium qui vient troubler profondément le sens des mesures photométriques.

1° Technique de Lian, Frumusan et Sassier [72].

C'est à ces auteurs français que revient sans conteste la paternité du principe de la mesure photométrique de la coagulation sanguine.

Le principe de la technique donnée en 1939 est le suivant :

La coagulation sanguine peut se résumer grossièrement en la transformation progressive du fibrinogène soluble en fibrine insoluble.

Au fur et à mesure de l'apparition, et de la précipitation de cette dernière, il se produit une augmentation de l'opacité du plasma, qui en modifie la densité optique.

Ces modifications sont aisées à suivre à l'aide d'un photomètre.

Cette méthode apporte donc des renseignements non seulement sur la durée de la coagulation, mais sur la marche générale du phénomène du commencement à la fin.

Afin de supprimer les inconvénients liés à la précipitation de l'oxalate de calcium, les auteurs utilisent *le froid* comme agent anticoagulant (8).

Le sang recueilli par ponction veineuse directement dans un tube à centrifuger refroidi à 0°, est centrifugé, puis maintenu à la glacière jusqu'au moment de l'examen.

Pour suivre la coagulation plus commodément, il est nécessaire de diluer le plasma.

Le plasma est simultanément réchauffé à 20° et dilué au 1/5 avec une solution contenant 0,80 gr. de chlorure de sodium et 10 millig. de calcium pour 100 cm³.

Le mélange se fait directement dans la cuve du *photomètre de Vernes*. L'heure notée à ce moment représente le temps 0.

Les observations optiques sont alors faites régulièrement de minute en minute, jusqu'à ce que le chiffre indiquant la densité optique ne varie plus.

L'étude du phénomène permet de délimiter quatre périodes:

1) Phase inactive : pas de changement de la densité optique.
2) Phase de réaction lente : faibles quantités de fibrinogène transformées.
3) Phase où la densité optique croît rapidement.
4) Phase de fin de réaction : où l'accroissement de densité optique se ralentit à nouveau.

La durée totale du phénomène est de 24 minutes, avec chiffres extrêmes de 15 à 32 minutes.

Les auteurs ont traduit les résultats numériques sous forme de graphiques en fonction du temps.

Ils ont obtenu des courbes en S qu'ils nomment *photothrombogrammes*.

Plus tard (1942) Lian, Sassier et Huret [73] ont apporté une modification à cette technique en utilisant comme anticoagulant du citrate trisodique en solution à 9 pour 100.

Dans ce cas, la solution calcique se trouve également modifiée. (Elle contient 25 mg. de Ca pour 100 cm³.)

2° Technique de Meunier (P.) et Dreyfus (A.) [79].

Cette méthode, qui date de 1940, suit le même procédé que la précédente. Mais l'emploi de l'électrophotomètre la rend beaucoup plus précise et beaucoup plus maniable.

Le sang est recueilli sur une solution de citrate de sodium à 0,25 M (soit 9 pour 100 du sel cristallisé à 5,5 OH_2).

Le plasma après centrifugation sera calcifié à l'aide d'une solution de chlorure de calcium à 0,1 M.

La proportion d'anticoagulant est de 1 goutte normale pour 1 cm³ de sang.

Pour l'examen photométrique, les auteurs procèdent de la façon suivante :

(8) Il est indispensable de pratiquer l'examen dans le quart d'heure suivant la prise de sang pour être sûr qu'il ne s'est produit aucun début de coagulation.

Dans une cuve à faces parallèles de 10 mm. d'épaisseur, propre et sèche, ils mesurent :

Solution calcique 0,1 M	0,25 cm³ (9)
Solution physiologique	3,75 cm³
Plasma citraté	1 cm³

Les mesures d'absorption se font avec l'écran orangé.

Les résultats sont également traduits par une courbe en S.

La branche voisine de l'horizontale est appelée par l'auteur *phase de latence :* soit t sa durée en minutes; T correspond au temps nécessaire pour obtenir le maximum d'opacité; h exprime la différence entre l'opacité initiale et l'opacité finale.

En 1943, Meunier [*81*] a apporté un certain nombre de modifications à cette méthode.

Tout d'abord, il utilise une solution de citrate trisodique à 4 pour 100 au lieu de 9 pour 100.

Le plasma est recalcifié dans les proportions suivantes :

Plasma citraté	0,50 cm³
Sérum physiologique renfermant 0,069 de chlorure de calcium pour 100	2,50 cm³

De plus, l'auteur adapte à l'électrophotomètre un « régulateur » permettant d'opérer à température constante.

Dans ces conditions, il a essayé de déduire des valeurs données par la courbe le chiffre exprimant le taux de prothrombine.

Pour cela, il considère le temps nécessaire à un accroissement petit et donné de l'opacité, par exemple 20 divisions de l'électrophotomètre, ce qui correspond sensiblement au premier mg. de fibrine formé. Il appelle ce temps Δt.

Le rapport $R = \Delta t/t$ paraît, à l'auteur, pouvoir être considéré comme caractéristique du taux de prothrombine du plasma.

Normalement, R serait compris entre *0,10* et *0,30* (10).

D'après Portes et Varangot [*94*], il serait possible d'établir la correspondance suivante :

Taux normal	$\Delta t/t \leqslant 0{,}30$
De 50 pour 100 à 100 pour 100.....	$\Delta t/t$ de 0,49 à 0,40
De 20 pour 100 à 50 pour 100.....	$\Delta t/t$ de 0,39 à 0,30
Moins de 20 pour 100	$\Delta t/t \geqslant 0{,}50$

Nous n'avons, quant à nous, pas obtenu une telle correspondance avec certitude.

3° Technique de Mauric, Durupt et Gorny [78].

Cette méthode n'est qu'une modification de celle de Meunier; elle a été publiée en 1944.

(9) L'auteur n'indiquant pas le degré d'hydratation du sel de calcium qu'il utilise, nous pensons qu'il faut sous-entendre que c'est le sel officinal cristallisé avec six molécules d'eau.

(10) Guillaumin [*48*] dénonce la possibilité, au cours du temps de latence, d'une déviation du spott en sens inverse de la déviation normale créant une difficulté pour la précision de t. Nous avons personnellement constaté ce phénomène avec quelques plasmas mais ne présentant jamais l'importance signalée par l'auteur.

9 cm³ de sang sont recueillis directement dans un tube à centrifuger contenant 1 cm³ de solution de citrate de sodium à 4 pour 100.

La coagulation du plasma après centrifugation est suivie à l'électrophotomètre de MEUNIER avec écran jaune et diaphragme 5, la température étant réglée à 40°.

Les auteurs utilisent une solution recalcifiante dont la composition est la suivante :

Chlorure de calcium à 1 pour 100 ..... 1 partie
Eau bis-distillée ..... 3 parties

et opèrent ainsi :

1 partie de cette solution est mélangée avec 1 partie de solution physiologique à 0,8 pour 100;

1,6 cm³ du mélange sont introduits dans la cuve photométrique et abandonnés 90 secondes, afin de permettre à l'équilibre de température de se réaliser; à ce moment, le plasma est ajouté à raison de 0,8 cm³.

Les courbes obtenues sont comparables à celles des précédentes méthodes.

Cette technique a été utilisée par les auteurs pour étudier l'activité thromboplastique de cerveaux de différents animaux (11).

Dans ce cas, ils préparent avec le cerveau à étudier une poudre acétonique.

A l'aide de cette poudre, ils font une émulsion dans de l'eau physiologique à raison de 50 mg. de poudre pour 1 cm³.

Le tout est maintenu à 40° pendant 1 heure, puis centrifugé 3 minutes à 6.000 tours.

Une partie du liquide surnageant est ajoutée à une partie de solution recalcifiante, et, avec 1,6 cm³ de ce mélange, ils opèrent comme précédemment.

Les auteurs notent que :

— chez les individus normaux :
  le temps de coagulation varie entre 2 et 8 minutes,
  le temps de latence varie entre 30 secondes et 2 minutes;
— pour un même individu :
  les plasmas prélevés à des intervalles de un ou plusieurs jours ont donné des courbes d'allure générale variable avec des temps de latence et de coagulation différents.

4° Technique de Feissly [36].

Cette méthode, publiée en 1942, diffère un peu des précédentes, car l'auteur utilise l'*héparine* comme anticoagulant et neutralise *in-vitro* son action anti-fermentaire par du *sulfate de salmine*.

D'après ses recherches, il considère que la dose optima de sulfate de salmine pour la « neutralisation » de l'héparine peut être calculée en multipliant le poids de l'héparine ajoutée au sang par le coefficient 6,5.

(11) Voir p. 49 les conclusions de ces auteurs.

Il préconise la sédimentation spontanée, afin d'éviter une diminution plus ou moins importante du nombre des plaquettes au cours de la centrifugation.

Cette méthode comporte :

1. Un prélèvement de 9 cm³ (ou 4,5 cm³) de sang au moyen d'une seringue paraffinée;

2. L'adjonction au sang de 1 cm³ (ou 0,5 cm³) de la solution:
   0,25 cm³ liquémine « Roche »,
   4,75 cm³ soluté physiologique;

3. Une sédimentation en glacière (4 à 5 heures).

Au moment de l'expérience, l'auteur introduit dans la cuve :
— 2 cm³ de solution recalcifiante (chlorure de sodium : 0,8 pour 100 + chlorure de calcium : 0,055 g. pour 100) (12);
— 0,25 cm³ de solution fraîchement préparée de sulfate de salmine à 0,104 g. pour 100.

Ce mélange est porté à 25°, puis additionné de 1 cm³ de plasma hépariné.

Aussitôt, les lectures opacimétriques sont entreprises.

L'auteur obtient des courbes en S analogues à celles précitées et présentant les quatre mêmes phases caractéristiques.

E. — Etude photographique de la coagulation sanguine

Nous nous bornerons à signaler cette méthode d'étude de la coagulation due à Chevallier, Guillot et Fiehrer [*23*] (1945).

Le plasma citraté, puis recalcifié et dilué, est photographié pendant qu'il coagule.

9,5 cm³ de sang sont recueillis sur 0,5 cm³ de solutions de citrate de sodium à 9 pour 100, puis centrifugés.

1 cm³ de plasma est additionné de 4 cm³ de la solution suivante :

Chlorure de sodium	6 g. 40
Solution de chlorure de calcium à 0,1 M	50 cm³
Eau distillée qs. pour	800 cm³

Le mélange est aspiré dans un tube de verre de 30 cm. de longueur et de 4 mm. de diamètre intérieur, effilé à l'une de ses extrémités.

Le tube est placé *horizontalement* dans l'espace d'un porte-film d'un agrandisseur photographique.

Des clichés sont tirés à intervalles réguliers.

En somme, on photographie l'image agrandie d'un plasma dilué en voie de coagulation.

Les auteurs ont étudié de cette façon des plasmas de différentes sortes, donnant des images variées.

(12) L'auteur ne précise pas le degré d'hydratation de ce sel.

Il est à noter que le procédé utilisé par les auteurs pour provoquer la coagulation du sang citraté est identique à celui de LIAN, SASSIER et HURET.

Critique de ces diverses techniques.

Parmi les méthodes utilisant comme test la formation brutale du caillot, c'est celle de WARNER et BRINKHOUS (p. 34) qui semble offrir le plus de garanties de sécurité. Elle élimine les causes d'erreur venant de la vitesse de transformation de la prothrombine en thrombine et celles venant des variations du taux de fibrinogène. Mais elle est longue et délicate, d'un maniement peu facile dans un laboratoire où doivent se pratiquer de nombreux examens.

Nous avons nous-même essayé la méthode de THORDARSON (p. 35), étant donné l'avantage qu'il y a à apprécier le temps en minutes et non plus en secondes. Là encore, réel inconvénient, car il faut pour chaque patient préparer toute une série de dilutions du plasma, ce qui entraîne un minimum de dix-huit déterminations, pour chaque sang. De plus, la solution de fibrinogène est difficile à conserver.

La méthode de QUICK (p. 30), ou l'une des micro-méthodes qui en dérivent, nous paraît la plus facilement utilisable dans la pratique courante.

Quant à la méthode de DAM (p. 38), nous avons déjà signalé que son intérêt était purement historique.

La technique de SOULIER (p. 33), si séduisante dans sa simplicité, nous semble assez imprécise : comment apprécier de façon nette les volumes des gouttes de sang et de thromboplastine, et, de ce fait, comment être sûr d'opérer toujours de façon identique?

Les méthodes photométriques (p. 40) apportent de précieux renseignements sur la coagulation sanguine, et nous les avons utilisées avec profit, bien qu'il faille faire certaines réserves sur la correspondance du rapport Δ t/t et du taux de prothrombine (13).

Nous ne pensons pas que la modification de MAURIC (p. 42) consistant à élever la température de la réaction jusqu'à 40° soit d'un gros intérêt pratique. Cet auteur avoue d'ailleurs lui-même n'avoir pas obtenu, chez le même malade, pendant plusieurs jours consécutifs, des courbes superposables.

Nous-même avons obtenu en opérant à 20° des courbes pour lesquelles t et T avaient les mêmes valeurs plusieurs jours de suite.

L'héparine, inhibiteur spécifique de la coagulation, semblerait en effet préférable aux divers anticoagulants sanguins, mais son prix élevé à l'heure actuelle en rend momentanément l'emploi à peu près impossible et écarte la technique de FEISSLY de la pratique courante de laboratoire.

(13) Voir p. 59 exemples de divergences entre rapport Δ t/t et temps de QUICK.

METHODE ADOPTEE POUR L'ETUDE DE LA COAGULATION

Le processus de coagulation fait entrer en réactions simultanées ou successives trois facteurs variables :

THROMBOPLASTINE PROTHROMBINE FIBRINOGENE

Se tenir, pour lui donner une expression chiffrée, à l'étude d'une seule de ces variables, expose à méconnaître des modifications de l'un ou l'autre facteur et à négliger les incidences pathologiques de ces faits.

D'autre part, en présence de techniques si nombreuses, chacune ayant des avantages et des inconvénients, laquelle choisir pour étudier correctement la coagulation?

Observer ce phénomène si complexe sous un seul angle nous a paru insuffisant; aussi avons-nous procédé systématiquement à :

— Un dosage de la prothrombine suivant le principe de QUICK,
— Une étude électrophotométrique de la coagulation,
— Un dosage pondéral de la fibrine.

Ainsi nous pensons avoir tenu compte au cours de cette étude des éléments dont l'appréciation nous est accessible à l'heure actuelle.

Après l'exposé de la technique opératoire utilisée et des résultats qu'elle nous a donnés, nous rapporterons quelques exemples de son intérêt.

1° Matériel.

1) *Pour la prise de sang :*
Des aiguilles à plateaux stériles.

2) *Tubes à centrifuger :*
De deux sortes :
a) *Des tubes droits*
en verre Pyrex, à fond rond, hauteur 11 cm. et diamètre 2 cm. A chacun correspond un bouchon émeri s'adaptant très exactement au col rodé.
Ces tubes, réservés aux prises de sang, portent un trait de jauge à 10 cm^3.

b) *Des tubes coniques*
servant à préparer l'émulsion de thromboplastine, hauteur : 7 cm., diamètre de l'orifice supérieur : 2 cm.

3) *Tubes à hémolyse*
qui serviront aux réactions proprement dites, ou bien à conserver dans le thermostat le plasma décanté, l'émulsion de thromboplastine, les solutions calciques.
Il faut les choisir de préférence en verre mince, à fond rond, hauteur 6 cm., diamètre 1 cm.
Il est préférable de toujours utiliser des tubes de même modèle.

4) *Pipettes :*
— Pipettes de 5 cm³, à écoulement libre. L'une d'elles sera exclusivement réservée à la solution recalcifiante.
— Pipettes de 1 cm³ graduées en dixièmes, pour mesurer la solution de citrate de sodium.
— Pipettes de 1 cm³ « à sec » très exactement jaugées, pour mesurer le plasma.
— Pipettes capillaires — type Mac Lean — de 0,2 cm³, portant un trait de jauge à 0,1 cm³ et un à 0,2 cm³ (prélèvement du sang pour la micro-méthode).
— Pipettes de Cornec-Cottet (1), de contenance 0,1 cm³ [27], dont le remplissage s'effectue automatiquement par capillarité, qui serviront aux additions de thromboplastine, de calcium et à la répartition du plasma.
— Une pipette très exactement graduée en centième de cm³, ou à défaut dont une goutte correspond *exactement* à 0,025 cm³, celle-ci pour la micro-méthode.

5) *Un petit mortier en verre et son pilon.*

6) *Thermostats.*
Il en faut deux, munis de thermomètre.
L'un réglé à 37° : cuve de cuivre parallélépipédique, chauffée au moyen d'une résistance électrique. Il faut que la surface supérieure soit suffisamment grande pour faciliter les manipulations. Par contre, une profondeur importante n'est pas nécessaire (2). Il sera équipé d'un système de supports métalliques maintenus par des crochets, et destinés à recevoir les tubes à hémolyse.
Le deuxième, réglé à 50°, peut être de dimensions beaucoup plus réduites, puisqu'il est seulement destiné à contenir la thromboplastine lors de sa réactivation.

7) *Un chronomètre*
indiquant si possible la demi-seconde.

---

(1) Fabriquées par Volk, 3, rue de la Chaîne, à Strasbourg, et également délivrées par l'intermédiaire de la maison Rhone-Poulenc.
(2) Celui utilisé avait une surface de 50 cm × 20 cm et une profondeur de 15 cm.

8) *Une centrifugeuse* .
permettant la centrifugation à deux vitesses différentes : 2.800 tours/minute et 5.600 tours/minute.
Un chronorupteur, branché sur le circuit et permettant l'arrêt automatique de la centrifugation en un temps déterminé, rend de grands services.

9) *Un électrophotomètre.*
Nous avons utilisé l'appareil de MEUNIER, construit par JOBIN et YVON, en nous servant uniquement de cuves type RUFISQUE - de dimensions intérieures : 1 cm. × 2 cm. × 3,5 cm.

Il est *très important* de procéder à un *nettoyage parfait* de toute la verrerie. La moindre souillure des tubes ou des cuves du photomètre — petits filaments de fibrine, traces de matières organiques ou minérales — peut entraîner des erreurs énormes.

Nous commençons donc par débarrasser les tubes de toutes traces de sang ou de réactifs. Lorsqu'ils sont parfaitement propres, nous les introduisons dans du mélange sulfo-chromique (3) et nous chauffons le tout jusqu'à émission de vapeurs; après refroidissement, nous procédons à un lavage à l'eau ordinaire — jusqu'à disparition des dernières traces de mélange sulfo-chromique — suivi de plusieurs rinçages à l'eau distillée. Enfin, les tubes, sans être essuyés, sont séchés à l'étuve.

Sitôt après leur emploi, les pipettes sont rincées à l'eau distillée, puis à l'alcool-éther, et séchées à la soufflerie.

Les cuves de l'électrophotomètre sont nettoyées en s'aidant d'une fine baguette de bois pour éliminer les débris de fibrine qui peuvent adhérer aux parois. Il est nécessaire de les dégraisser régulièrement à l'alcool-ammoniacal.

2° Réactifs.

Nous sommes obligées d'avoir recours à deux solutions anticoagulantes, l'une pour le sang veineux, l'autre pour le sang capillaire.

Les solutions calciques correspondantes seront donc également différentes.

La thromboplastine est la même pour l'une et l'autre méthode.

I. — SANG VEINEUX

1. Solution anticoagulante :
citrate trisodique à 9 pour 100.

2. Solution calcique A :
chlorure de calcium (Cl_2 Ca, 6 OH_2) 0,025 M.

(3) Sa composition est la suivante : acide sulfurique ordinaire et solution saturée de chromate acide de potassium à parties égales.

3. Solution recalcifiante B pour l'examen photométrique :
   solution de chlorure de calcium (Cl_2 Ca, 6 OH_2)
   0,1 M ..... 50 cm³
   chlorure de sodium ..... 6,40 g.
   eau distillée ..... 800 cm³
4. Soluté physiologique :
   chlorure de sodium 0,80 pour 100.
5. Sable de Fontainebleau :
   lavé à l'eau chlorhydrique, puis bien rincé à l'eau distillée et dégraissé à l'éther.
6. Emulsion de thromboplastine.
   Etant donné son importance, nous lui consacrons un chapitre spécial (voir. p. 51).

II. — MICRO-METHODE AU SANG CAPILLAIRE

1. Solution anticoagulante :
   citrate trisodique ..... 0,30 g.
   chlorure de sodium ..... 0,78 g.
   eau qs. p. ..... 100 cm³
2. Solution calcique C :
   chlorure de calcium (Cl_2 Ca, 2 OH_2) à 1 pour 100.

3° Thromboplastine.

Nous envisagerons dans ce chapitre deux opérations nettement distinctes :

— L'obtention d'un extrait tissulaire doué d'activité thromboplastique;

— La préparation à partir de ce dernier du réactif finalement employé.

Il paraît évident qu'un bon réactif tromboplastique est le point crucial de tout dosage de prothrombine. Aussi les recherches faites à ce sujet sont-elles nombreuses. Après s'être adressés à différents animaux, certains auteurs ont essayé d'établir des échelles comparatives de l'activité des produits selon leur origine.

Létard [*69-70*] indique que pour les thromboplastines d'origine cérébrale, la moins active est celle du Rat blanc, puis viennent par ordre d'activité croissante : Veau, Bœuf, Mouton, Cobaye, Lapin et enfin Chien. L'auteur signale que le cerveau humain est également très actif, mais ne lui assigne pas une place précise dans sa classification.

Pour Mauric, Durupt et Gorny [*78*], l'ordre est le suivant, du produit le moins actif au plus actif : Mouton, Bœuf, Cobaye, Homme, Lapin (4).

(4) Kazal et Arnow [*59*] ont étudié plus spécialement la thromboplastine de cerveau de Cheval : même moins active que celle venue du cerveau de Lapin, elle donnerait un meilleur réactif pour effectuer le dosage de la prothrombine.

Nous n'avons personnellement pas fait une étude systématique des différents extraits encéphaliques, mais nous avons été amenées à remarquer que vis-à-vis d'un même plasma humain, la thromboplastine provenant de cervelle de Lapin était plus active que celle provenant de cerveau humain.

Ce fait pourrait, à notre avis, s'expliquer de la façon suivante : l'activité thromboplastique tissulaire diminue très rapidement après la mort; or, dans le cas du cerveau humain, il faut attendre pour effectuer le prélèvement l'expiration du délai légal autorisant à procéder à l'autopsie (48 heures), tandis que chez l'animal, le prélèvement suit immédiatement la mort.

Dam et Glavind [*29*] envisagent un autre aspect du problème. Ils insistent tout particulièrement sur la spécificité des différentes thromboplastines (5) et sur la nécessité d'utiliser un extrait tissulaire venant d'un animal d'espèce analogue à celui dont on examine le plasma; une seule exception : le cerveau de Lapin, utilisable pour le plasma humain.

Quick [*96*] arrive à des conclusions semblables.

De toutes façons, quelle que soit la matière première utilisée, elle subit, après broyage, l'un des traitements suivants :

A. — Macération et émulsion dans de l'eau salée. Répartition en ampoules que l'on conserve au frigidaire.
B. — Macération en solution physiologique, séchage à 37°. Conservation en ampoules scellées à la température ordinaire.
C. — Macération et épuisement à l'acétone. Séchage à 37°. Conservation en ampoules sous vide ou dans l'azote.

Que l'on utilise l'une ou l'autre de ces méthodes, Plum et Larsen [*93*] insistent longuement sur l'importance de la qualité de la matière première et sur les précautions à prendre pour obtenir la préparation-mère et l'émulsion finalement employée.

Quick a d'abord utilisé le procédé B: il obtenait ainsi un produit coagulant le sang humain normal en 22 à 25 secondes et conservant son activité pendant 8 jours, à condition de le laisser à la glacière. En 1938, il utilisa l'extrait encéphalique épuisé à l'acétone et obtint ainsi des temps de coagulation de 12 à 13 secondes.

Personnellement, nous avons dû procéder à de nombreux essais avant d'obtenir un réactif convenable.

Quick utilisait des cervelles de Lapin, mais l'époque actuelle ne nous a pas permis l'emploi systématique de cette matière première de choix.

Un autre organe : le poumon, se révèle riche en substances thromboplastiques, ou du moins en corps protidiques susceptibles d'activer la coagulation — selon Widenbauer et Reichel [*121*], ce ne sont pas de véritables thromboplastines.

Nous nous sommes donc d'abord adressées au poumon de Bœuf et nous avons utilisé la technique de préparation donnée

(5) Copley [*26*] indique plus spécialement l'inactivité des extraits de cerveau et de peau de Poulet vis-à-vis du sang Humain, alors qu'ils sont actifs vis-à-vis du sang de Poulet.

par THORDARSON [*113*]. Nous l'avons rapidement abandonnée, car, outre les réelles difficultés pour se procurer cet organe, sa transformation en un réactif utilisable était désagréable : nécessité de manipuler une matière organique ayant subi une macération aqueuse de 48 heures à 28°, donc dans un état de décomposition déjà avancée.

Nous avons alors utilisé uniquement du cerveau humain, prélevé le plus rapidement possible après expiration du délai légal d'attente pour procéder à l'autopsie.

Notre première technique de préparation fut celle de B. ROVATTI [*103*]. Cet auteur prépare simplement un extrait aqueux de substance cérébrale à 15 pour 100 dans de l'eau salée. Il répartit l'émulsion en ampoules après un chauffage de 20 minutes à 56°, dans le but d'inactiver la thrombine ou la prothrombine pouvant encore exister.

Nous obtenions ainsi une thromboplastine très active, mais dont malheureusement la sensibilité est faible.

La diminution de l'activité commence au bout de quelques jours, s'accélère rapidement, si bien qu'après trois semaines le réactif est pratiquement inutilisable.

C'est ainsi qu'une thromboplastine préparée le 10 mars nous a donné successivement les résultats indiqués dans le tableau n °2 :

Prothrombine	Temps de coagulation		
	10 MARS	15 MARS	29 MARS
100 p. 100	20 sec.	24 sec.	34 sec.
50 p. 100	23 sec.	30 sec.	40 sec.
25 p. 100	34 sec.	40 sec.	58 sec.

TABLEAU N° 2. — *Diminution de l'activité de la préparation de thromboplastine aqueuse.*

De toutes façons, l'instabilité du réactif présente un gros inconvénient. Elle oblige à procéder chaque jour à un dosage comparatif sur un sang témoin. Ce dernier peut difficilement être le même pendant plusieurs jours consécutifs, ceci pour deux raisons : difficulté d'imposer une prise de sang quotidienne à un homme bien portant, et modification possible du temps de coagulation du sujet à la suite des saignées répétées, si bien qu'il devient difficile de comparer les résultats entre eux.

Nous avons alors adapté le procédé de QUICK au cerveau humain.

Un cerveau humain prélevé le plus tôt possible après la mort, ne présentant aucune lésion tissulaire apparente, n'ayant pas un aspect hémorragique, est soigneusement débarrassé des méninges et des vaisseaux sanguins qui peuvent encore y adhérer.

Il est plus aisé de procéder à cette opération en maintenant l'hémisphère cérébral sous un courant d'eau qui entraîne au fur et à mesure le sang et les déchets.

La substance grise est seule conservée, car elle s'est révélée la plus riche en substance thromboplastique.

Elle est essorée au maximum dans du papier filtre, puis passée au hachoir universel.

Nous recevons la bouillie obtenue dans une capsule tarée qui sera pesée, l'opération terminée.

Le contenu de la capsule est transvasé dans un mortier de forme haute, puis broyé avec son poids d'acétone, versé peu à peu. Il se forme d'abord une masse pâteuse, devenant grumeleuse peu à peu.

L'acétone ayant servi à cette première opération est alors décantée sur un entonnoir garni d'un tampon de mousseline.

L'épuisement acétonique est répété de la même façon au moins trois fois, avec de nouvelles quantités de solvant frais égales à la première. Finalement, nous obtenons un produit ayant l'aspect de fins grumeaux de teinte chamois; nous le recueillons sur le tampon de mousseline et nous l'essorons entre des doubles de papier filtre.

Plus la déshydratation acétonique de ce produit aura été poussée, plus sa dessiccation finale sera facile et rapide.

C'est pourquoi nous conseillons ce minimum de trois épuisements et, si cela est possible, un quatrième.

La dessiccation constitue le temps délicat de l'opération pour obtenir une poudre véritablement active. Elle doit s'effectuer dans le temps minimum et donner le moins de prise possible aux phénomènes d'oxydation secondaires.

Deux méthodes s'offrent à l'opérateur :

1. Dessiccation dans le vide à la température la plus basse possible;

2. Dessiccation à l'étuve à 37°.

La première dure de 12 à 18 heures et la seconde quelques heures seulement.

Nous avons personnellement utilisé la première avec de bons résultats, la seconde ne nous paraissant pas sans danger.

Nous étalons sur des plaques de verre le produit obtenu après traitement à l'acétone et nous introduisons le tout dans un bon dessicateur garni d'acide sulfurique et muni d'un ajutage permettant de faire le vide.

La matière cérébrale sèche est pulvérisée dans un mortier de verre, puis répartie en ampoules. Nous avons choisi la dose de 0 g. 30 pour une ampoule comme étant la plus commode; elle nous évite une pesée au moment de l'emploi.

Les ampoules sont remplies avec de l'azote et fermées.

Elles sont conservées au cryostat (+ 2°).

En respectant rigoureusement ce procédé de préparation, nous avons obtenu des poudres conservant leur activité pendant six mois.

Nous avions, dans une première série d'expériences, simplement conservé la poudre en ampoules scellées au cryostat. Dans ce cas, elle subissait une altération encore assez rapide, due sans doute à des phénomènes d'oxydation.

Voici quelques chiffres réunis dans le tableau n° 3 :

Prothrombine	Temps de Quick		
	22 avril	28 avril	1er mai
100 p. 100	21 sec.	23 sec.	29 sec.
50 p. 100	27 sec.	30 sec.	34 sec.
25 p. 100	39 sec.	39 sec.	44 sec.

Tableau N° 3. — *Diminution de l'activité d'une poudre de cerveau après traitement acétonique et dessiccation.*

La poudre avait été préparée le 5 avril, et était devenue pratiquement inutilisable en un mois environ.

Au contraire, les ampoules conservées en atmosphère privée d'oxygène : vide ou azote (cette dernière méthode étant encore préférable) nous ont donné les résultats suivants :

Une série d'ampoules préparées le 26 septembre 1944 a été titrée le 5 octobre, puis vérifiée aux dates suivantes : 11 octobre, 20 novembre, 2 décembre, 8 janvier; pendant tout ce temps, le titre n'a pas varié.

Une nouvelle quantité de poudre préparée le 5 janvier n'a subi aucune modification d'activité jusqu'au 20 juin, date à laquelle la provision était épuisée.

La poudre obtenue, une autre question se pose : comment préparer l'émulsion définitive?

Nous avons procédé de deux manières différentes.

1. — EMULSION AU MORTIER

Le contenu d'une ampoule est trituré dans un petit mortier de verre avec 5 cm³ de solution de chlorure de sodium à 0,80 pour 100, ajoutés par fractions successives de 1 cm³. Il faut opérer avec soin, de façon à obtenir une émulsion bien homogène n'adhérant plus au mortier. Elle est transvasée dans un petit tube à centrifuger conique qui est placé vingt minutes dans le thermostat à 37°, puis aussitôt centrifugé à 2.800 tours pendant dix minutes.

A la sortie de la centrifugeuse, l'émulsion est séparée en deux couches. C'est la couche supérieure, liquide d'aspect laiteux, qui, décantée avec soin, constitue le réactif thromboplastique.

En suivant scrupuleusement les détails de cette préparation, nous obtenons un réactif provoquant la coagulation du plasma normal en 21 secondes.

Nous avons utilisé cette méthode pour l'étude de la prothrombine chez la femme enceinte, où l'hyperprothrombinémie provoque un raccourcissement parfois considérable du temps de Quick. Dans ce cas, il n'y a pas intérêt à utiliser une thromboplastine trop active.

Au contraire, ce réactif avait l'inconvénient de donner des temps de Quick excessivement longs pour les sujets présentant un abaissement notable de la prothrombinémie.

Ceci était incommode pour l'étude de l'action physiologique de la méthylène-bis-oxycoumarine.

C'est pourquoi nous avons cherché à modifier la préparation de notre émulsion en suivant les conseils donnés par LAVERGNE [*63*].

2. — EMULSION EN TUBE

0 gr. 30 de poudre sont triturés au mortier avec un volume égal de sable (soigneusement lavé à l'eau chlorhydrique, puis dégraissé à l'éther). Le produit pulvérulent ainsi obtenu est introduit dans un petit tube à centrifuger conique avec 5 cm³ de solution de chlorure de sodium à 0,80 pour 100.

Le tout est agité énergiquement, puis recouvert d'un petit capuchon en caoutchouc et placé dans un thermostat à 50° pendant quinze minutes, température qu'il ne faut surtout pas dépasser sous peine d'inactiver complètement le réactif.

L'émulsion est centrifugée immédiatement à 2.800 tours pendant une minute.

La partie supérieure laiteuse est décantée dans un tube à hémolyse.

Dans ces conditions, le temps de QUICK d'un individu normal est de quatorze secondes.

4° Technique opératoire.

A) POUR LE SANG VEINEUX

Le prélèvement se fait, le patient étant à jeun, par ponction veineuse superficielle au pli du coude, en recevant le sang directement dans un tube à centrifuger droit contenant 0,50 cm³ de solution citratée à 9 pour 100 et portant un trait de jauge à 10 cm³.

Il faut cesser le prélèvement lorsque le sang atteint cette limite.

Le tube est alors bouché, puis retourné doucement deux ou trois fois de façon à obtenir un mélange homogène, mais sans produire de mousse.

La centrifugation doit suivre aussi rapidement que possible la prise de sang. Elle se fait à 5.600 tours et dure six minutes.

Il est très important de respecter la durée et la vitesse de la centrifugation, car c'est d'elles que dépend la quantité de plaquettes éliminées.

Les volumes de globules et de plasma sont soigneusement notés, puis le plasma est entièrement décanté dans un tube propre et sec et servira aux déterminations suivantes.

a) *Dosage de la fibrine*

Nous utilisons la technique de SASSIER [*71*] adaptée au sang citraté.

Dans un bécher de 125 cm³ :

nous versons :

Solution recalcifiante B	20 cm³
Solution de chlorure de sodium à 0,8 pour 100.	30 cm³
Plasma	5 cm³

Après agitation, le tout est abandonné trois heures à la température du laboratoire. Après ce laps de temps, le coagulum est essoré dans un linge de toile fine et le pâton de fibrine obtenu, abondamment lavé à l'eau distillée, puis desséché à l'étuve.

L'emploi du sang citraté nous dispense de la calcination, car le citrate de calcium est soluble et se trouve éliminé par les eaux de lavage.

Le poids de fibrine est alors calculé de la façon suivante :

soit v = volume de plasma
p = poids du pâton de fibrine sec.

$$\text{Fibrine par litre} = \frac{p \times v \times 200}{v - 0{,}50}$$

b) *Examen photométrique de la coagulation*

Il se pratique avec l'électrophotomètre de Meunier.

Nous opérons en lumière rouge et à la température de 20° — réactifs et cuves ayant été portés à cette température au préalable.

Dans la cuve, nous mesurons 4 cm³ de solution recalcifiante B, puis nous ajoutons 1 cm³ de plasma, à ce moment le chronomètre est déclenché. La cuve est retournée une ou deux fois et replacée dans l'appareil.

Le spot lumineux est ramené au zéro.

Nous notons alors :

a — Le temps de latence = t.
b — Le temps mis pour parcourir 10 divisions du tambour = Δ t 10.
c — Le temps mis pour parcourir 20 divisions du tambour = Δ t 20.

Puis les variations de densité optique de minute en minute jusqu'à ce que le spot lumineux ne se déplace plus.

Nous obtenons ainsi T.

Il est *très important* d'opérer toujours à 20° (± 1°), car le facteur thermique intervient de façon très nette dans le processus de coagulation. Des variations de quelques degrés — au-dessus ou au-dessous de cette valeur — modifient sensiblement l'allure de la courbe, provoquant un allongement ou au contraire une diminution des temps t et T.

c) *Dosage de la prothrombine*

Dans les supports du thermostat à 37° sont placés d'une part une série de tubes à hémolyse propres et secs, d'autre part :

— Le tube contenant la thromboplastine,
— Le tube contenant la solution calcique A,
— Le tube contenant le plasma à étudier.

L'ensemble est abandonné deux minutes afin de permettre à l'équilibre de température de se réaliser.

Ceci fait, nous ajoutons successivement dans un des tubes à hémolyse :

0,1 cm³ de plasma,
0,1 cm³ d'émulsion de thromboplastine,
0,1 cm³ de solution calcique.

Au moment où nous ajoutons le calcium, nous déclenchons le chronomètre et nous agitons le mélange, tout en le maintenant au sein de l'eau à 37°. Puis, de seconde en seconde, nous inclinons doucement le tube jusqu'au moment où le caillot sanguin, apparu brusquement, forme un bloc homogène adhérant au fond du tube.

Ceci nous donne le temps de QUICK en secondes.

En procédant de la même manière sur des plasmas dont la teneur en prothrombine a été artificiellement abaissée à 70 pour 100, 50 pour 100, 25 pour 100 et 10 pour 100, par dilution avec de la solution physiologique (chlorure de sodium 0,80 pour 100), nous avons pu construire une courbe — temps en secondes en abscisses et taux de prothrombine en ordonnées (fig. n° 4).

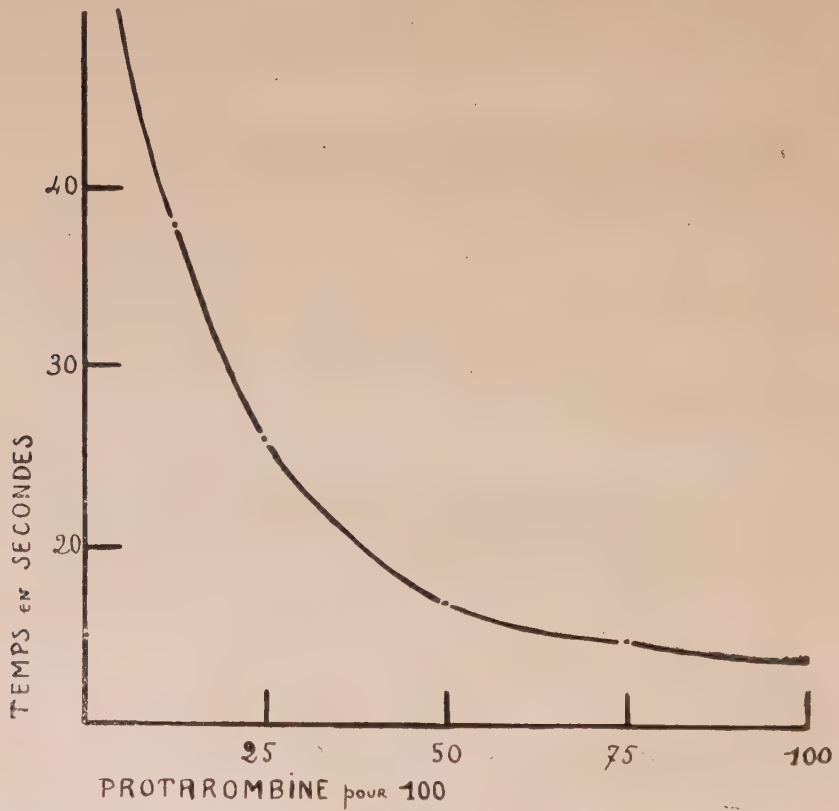


Fig. 4

Courbe étalon permettant la détermination du taux de prothrombine d'un plasma quelconque.

Pour trouver le taux de prothrombine du plasma inconnu dont nous avons déterminé le temps de QUICK, il suffit donc de se reporter à cette courbe.

La même courbe étalon peut servir tant que l'on utilise des ampoules de thromboplastine venant d'un même lot.

Une nouvelle courbe doit être établie à chaque renouvellement du réactif thromboplastique.

B) POUR LE SANG CAPILLAIRE

Nous avons adopté le principe de la méthode de PLUM (p. 31), mais en modifiant le mode de prélèvement et en utilisant notre réactif thromboplastique habituel à la place de celui indiqué par l'auteur.

Nous préparons une série de tubes à hémolyse (trois par malade) contenant chacun 0,1 cm³ de solution anticoagulante (p. 49, § II).

Puis nous aspirons dans une pipette de 0,2 cm³ la même solution jusqu'au repère 0,1 cm³. A ce moment, nous piquons la pulpe du doigt et nous plaçons notre pipette sur la goutte de sang qui sourd et aspirons lentement jusqu'à ce que la pipette soit emplie jusqu'au repère 0,2 cm³. Le sang se trouve donc immédiatement mis en contact avec la solution citratée.

Le mélange est aussitôt chassé dans le tube à hémolyse correspondant. Celui-ci est bien agité pour empêcher toute menace de début de coagulation.

Afin de faciliter le prélèvement du sang et du liquide salin, nous adaptons aux pipettes une poire en caoutchouc munie d'une vis, qui fonctionne comme une petite pompe aspirante très régulière (dispositif de CLOUP).

Les prises de sang terminées, les tubes sont placés dans le thermostat à 37° où séjournent également la solution calcique C et le réactif thromboplastique.

L'équilibre de température réalisé, nous ajoutons dans l'un des tubes successivement :

0,1 cm³ de thromboplastine,

0,025 cm³ (soit une goutte de notre pipette spéciale) de solution calcique C.

Dès l'addition de calcium, le chronomètre est déclenché et le tube agité légèrement.

Puis de seconde en seconde, nous inclinons le tube à l'horizontale jusqu'à prise en masse.

Avec cette technique, nous obtenons comme chiffre normal correspondant à 100 pour 100 de prothrombine 17 secondes.

Les temps de coagulation sont donc tous un peu plus allongés que dans la technique précédente.

Cela résulte de la plus grande dilution du sang.

Le liquide sanguin coloré en rouge par la présence des hématies permet d'apprécier plus nettement le moment de la prise en masse, que dans le plasma.

Pour établir la courbe étalon, nous avons dû utiliser le sang de patients dont le taux de prothrombine était plus ou moins abaissé — soit naturellement étant donné leur état, soit après absorption de dicoumarine — et connaissant déjà ce taux déterminer leur temps de coagulation. Il n'est en effet pas possible de diluer le sang après le prélèvement, car la dilution simultanée de l'anticoagulant détruit le rapport citrate-calcium au moment de la recalcification et entraîne des résultats erronés.

5° Critique de cette méthode.

On est en droit de se demander s'il y a intérêt à procéder systématiquement à ces trois examens. Nous répondrons par l'affirmative.

Soit par exemple un hémophile : sa fibrinémie, sa prothrombinémie sont normales, mais à suivre l'opacification progressive de son plasma, les caractéristiques de la courbe obtenue sont très différentes de celles d'un individu normal (6). La coagulation photométrique présente dans ce cas un intérêt important.

Meunier [*81*] déduit le taux de prothrombine du seul examen photométrique du plasma, en évaluant le rapport $\Delta t/t = R$. Il constate que si on raccourcit t, soit par addition de thromboplastine, soit par élévation de température, Δt est également raccourci, si bien que le rapport demeure inchangé.

D'autre part, selon lui, ce rapport est indépendant du taux de fibrinogène plasmatique.

Normalement compris entre 0,10 et 0,30, R s'élèverait à mesure que la prothrombine s'abaisserait [*82*].

Ne voulant négliger aucune précision, nous avons déterminé régulièrement ce rapport. Mais — ainsi qu'il ressort de l'étude des tableaux suivants — nous avons très rarement obtenu de cette façon des résultats comparables à ceux donnés par la méthode de Quick.

Voici quelques chiffres permettant la comparaison entre le taux de prothrombine mesuré selon la technique de Quick et le rapport de Meunier.

Tout d'abord, un tableau groupant des malades ayant des taux de prothrombine semblables (tableau n° 4).

---

(6) Voir p. 74 quelques chiffres et courbes.

MEUNIER		QUICK	MEUNIER		QUICK
rapport $\frac{\Delta t}{t}$	p. prothrombine p. 100	p. prothrombine p. 100	rapport $\frac{\Delta t}{t}$	p. prothrombine p. 100	p. prothrombine p. 100
0,07	p.>100	100	0,50	25<p.<40	75
0,11	»	100	0,59	»	75
0,11	»	100	0,68	p.<20	75
0,12	»	100	0,88	p.<10	75
0,16	»	100			
0,27	»	100	0,11	p.>100	60
0,26	»	100	0,15	»	60
0,30	50<p.<100	100	0,17	»	60
0,35	»	100	0,17	»	60
0,34	»	100	0,23	p.>100	60
0,28	»	100	0,45	40<p.<50	60
0,36	»	100	0,47	»	60
0,38	»	100	0,60	25<p.<40	60
0,42	40<p.<50	100			
0,42	»	100	0,17	p.>100	50
0,40	»	100	0,18	p.>100	50
0,44	»	100	0,50	25<p.<40	50
0,44	»	100	0,95	p.<10	50
0,46	»	100			
0,47	»	100	0,16	p.>100	40
0,50	25<p.<40	100	0,30	p.=100	40
0,51	»	100	0,31	50<p.<100	40
0,53	»	100	0,36	»	40
0,54	»	100	0,42	40<p.<50	40
0,60	»	100	0,50	25<p.<40	40
0,63	p.<20	100	0,50	»	40
0,66	»	100			
0,73	»	100	0,23	p.>100	35
0,73	»	100	0,34	50<p.<100	35
0,75	»	100	0,63	p.<20	35
0,75	»	100			
0,80	p.<10	100	0,10	p.>100	30
0,86	»	100	0,13	»	30
0,87	»	100	0,15	»	30
0,92	»	100	0,22	p.>100	30
1,05	»	100	0,29	»	30
1,05	»	100	0,43	40<p.<50	30
1,32	»	100	0,47	»	30
			0,73	p.<20	30
0,13	p.>100	75	0,88	p.<10	30
0,18	»	75			
0,21	p. 100	75	0,40	40<p.<50	10
0,21	»	75	0,46	»	10
0,24	»	75	0,47	»	10
0,22	»	75	0,52	25<p.<40	10
0,28	»	75	0,64	p.<20	10
0,38	50<p.<100	75	0,68	»	10
0,46	40<p.<50	75			

TABLEAU N° 4.

Etude comparative de la prothrombinémie déterminée par la technique de QUICK *et celle de* MEUNIER.

Si nous analysons ce tableau, nous voyons que sur 38 sujets différents — tous normaux ne présentant aucun trouble de la crase sanguine — le temps de QUICK indique régulièrement 100 pour 100 de prothrombine, alors que le rapport $\Delta\ t/t$ varie entre 0,07 — ce qui correspondrait à plus de 100 pour 100 — et 1,32 — soit moins de 5 pour 100.

D'autre part, nous voyons que la valeur 0,47 (MEUNIER) correspond une fois à 100 pour 100, une fois à 30 pour 100, une fois à 10 pour 100 (QUICK).

Enfin il est facile de constater que, dans certains cas, nous avons trouvé des valeurs de R supérieures à 0,50 pour les individus ayant 100 pour 100 de prothrombine, alors que R s'est révélé inférieur à 0,20 pour des prothrombines abaissées à 30 pour 100, ce qui est en contradiction complète avec l'échelle de correspondance donnée par PORTES et VARANGOT [*94*].

Dans le tableau n° 5, voici les résultats obtenus chez quelques patients en procédant à des dosages répétés chaque jour.

	Jours	Prothrombine p. 100 QUICK	Rapport de MEUNIER
Sujet 1	J 1	75	0,18
	J 2	75	0,39
	J 3	75	0,75
Sujet 2	J 1	100	0,27
	J 2	100	0,11
Sujet 3	J 1	100	0,38
	J 2	100	0,10
Sujet 4	J 1	100	0,61
	J 2	100	0,11
	J 3	100	0,42

TABLEAU N° 5.
Détermination du temps de QUICK *et du rapport de* MEUNIER *chez le même sujet pendant plusieurs jours.*

En ne considérant que le rapport de MEUNIER, le taux de prothrombine de ces individus aurait subi de brusques variations, et cela sans raison. Le sujet 1 serait passé en trois jours de 100 pour 100 aux environs de 20 pour 100.

Citons pour terminer le cas d'un malade traité par la méthylène-bis-oxycoumarine, pour lequel les résultats sont consignés dans le tableau n° 6 et la figure 5.

	JOURS				
	J1	J2	J3	J4	J6
prothrombine % méthode QUICK.	100	25	15	25	28
rapport de MEUNIER.	0,54	0,37	0,32	0,34	0,43

TABLEAU N° 6.
Comparaison entre la prothrombinémie selon QUICK *et le rapport de* MEUNIER *chez un sujet traité à la dicoumarine.*

Fig 5

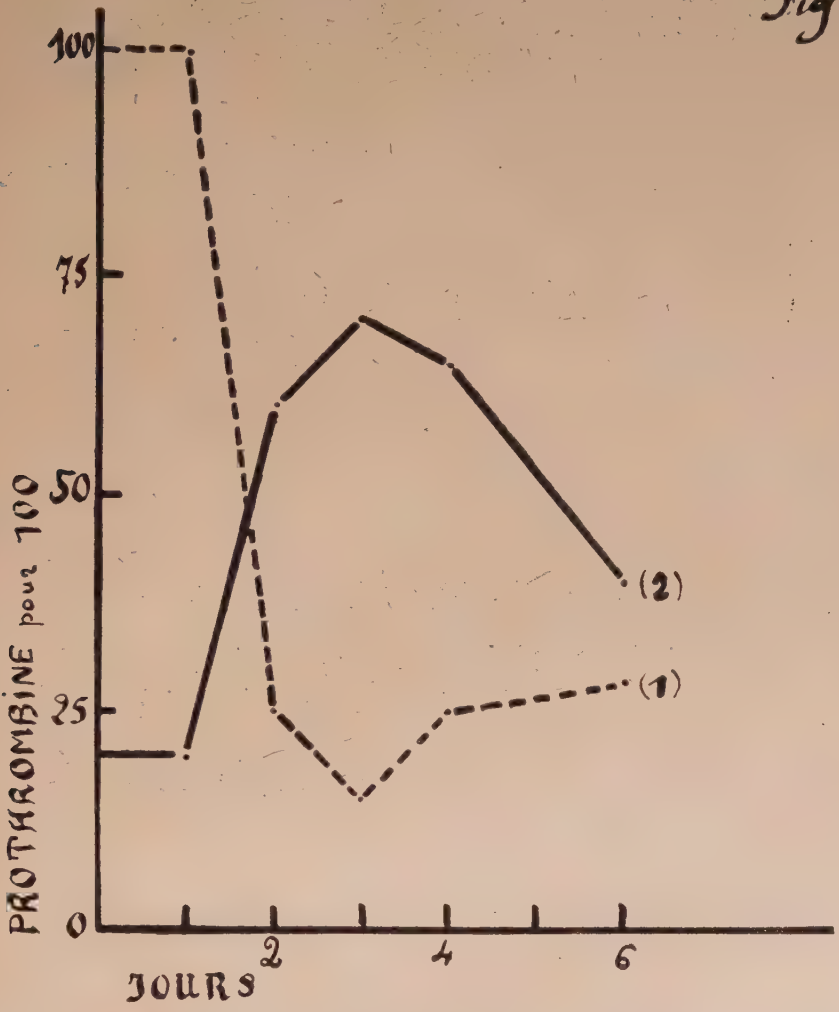


Fig. 5. — Variations de la prothrombine chez un même sujet ayant absorbé de la dicoumarine, en utilisant, soit la technique de QUICK (courbe 1), soit celle de MEUNIER (courbe 2).

Ici, le rapport de MEUNIER semblerait indiquer que la dicoumarine a produit chez le malade un effet inverse de celui attendu, puisqu'au lieu d'augmenter – diminution de la prothrombine — les valeurs de R passent par un minimum trois jours après l'absorption du médicament (Cf. courbes fig. n° 5).

Il est donc évident que, tout en insistant sur l'importance des renseignements que peut apporter l'examen électrophotométrique de la coagulation, il ne peut suffire pour déterminer le taux de prothrombine. Il faut lui adjoindre un dosage plus spécifique de la prothrombine. La technique de QUICK paraît répondre à ce besoin.

L'intérêt clinique de la fibrinémie est bien connu et nous n'insisterons pas ici sur ce point qui fit l'objet de nombreuses études, en particulier celles de MM. Lian, Sassier, Facquet et Frumusan [*71*].

Indiquons seulement que l'extrême fibrinopénie peut être rendue responsable de certaines hémorragies.

C'est ainsi que, personnellement, nous avons été à même d'examiner le sang d'individus ayant des hémorragies malgré un taux de prothrombine et un temps de coagulation normaux, et nous avons constaté chez eux un abaissement de la fibrinémie.

Tel :

Brug.	hémorragies rétiniennes	
	prothrombine	100 pour 100,
	fibrine	2,50 g. par litre de plasma.

RESULTATS OBTENUS

Nous indiquons maintenant les renseignements que nous a apportés cette méthode, en commençant naturellement par les résultats chez l'adulte normal.

Nous donnons, ensuite, un certain nombre de chiffres obtenus dans des cas pathologiques.

A. — ADULTES NORMAUX

Nous avons tout d'abord procédé à l'étude de la coagulation chez des adultes pouvant être considérés comme normaux de ce point de vue. Nos sujets ont été choisis parmi le personnel médical hospitalier en bonne santé ou parmi des malades consultant pour des affections bénignes n'ayant pas de répercussion sur la coagulation sanguine : gale, entorse, atteintes cardiaques légères.

1° Prothrombinémie.

La détermination de la prothrombine chez 40 sujets adultes à jeun (1), en parfaite santé, a donné les résultats suivants :

Chez	35	individus	un	taux	de	100 pour 100
Chez	2	»		»		80 pour 100
Chez	2	»		»		75 pour 100
Chez	1	»		»		60 pour 100

2° L'étude électrophotométrique

de la coagulation de ces mêmes individus s'est toujours traduite par une courbe du type de celle représentée ci-contre (fig. n° 6) ; elle comprend :

(1) Il est essentiel que le patient soit à jeun, car la présence dans le plasma des produits venant de la digestion du lait ou de matières grasses gêne énormément pour pratiquer ces examens, surtout pour suivre la coagulation au photomètre.

a) Une première partie horizontale rectiligne correspondant *au temps de latence t.*

b) Une deuxième, peu importante, où l'opacification est lente, correspondant à la formation des premiers milligrammes de fibrine.

c) Une troisième de beaucoup la plus importante, où la densité optique croît très rapidement.

d) Une partie presque horizontale annonçant la fin de la réaction.

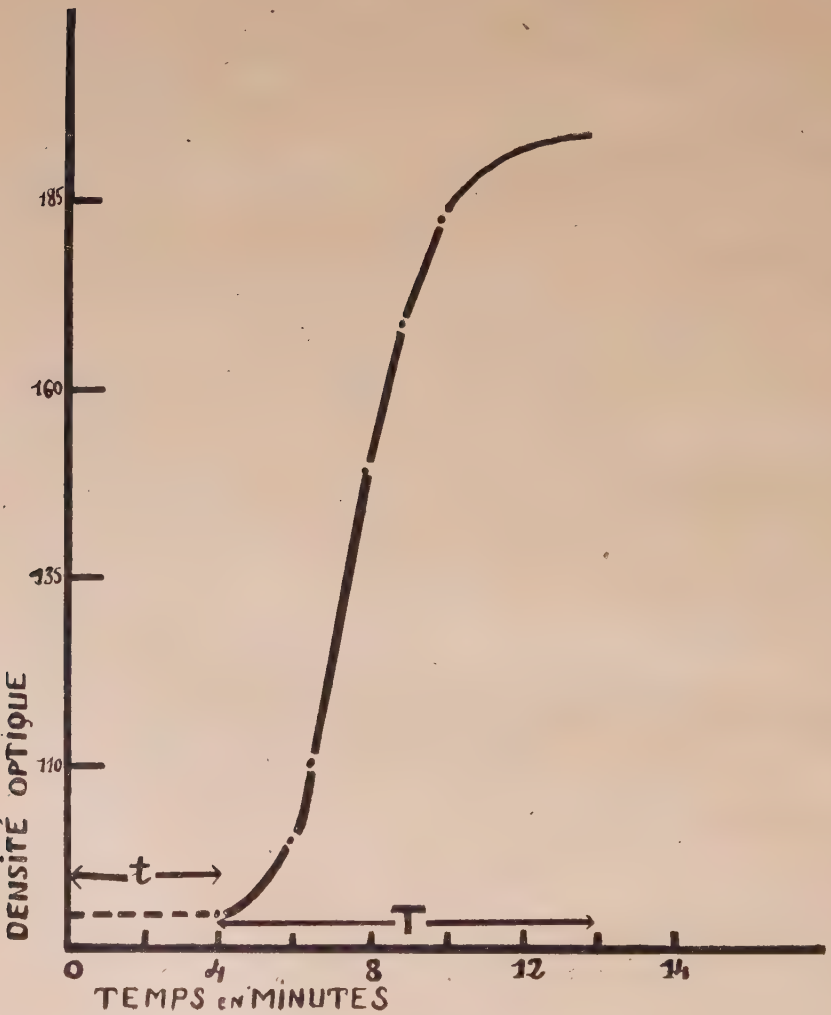


Fig 6

L'ensemble des trois dernières phases correspond au temps T.

Pour tracer toutes ces courbes, nous avons déterminé *t*, *T* et Δ *t*.

Etant donné les réserves faites à propos du rapport de MEUNIER Δ t/t, nous ne donnerons ici que nos résultats pour *t* et *T*.

Les valeurs extrêmes trouvées pour le *temps de latence t* furent 3 minutes 30 secondes et 6 minutes 30 secondes.

Mais ce sont là temps limites et peu fréquents, puisque nous avons pu établir la statistique suivante :

3 cas = 3 minutes 30 secondes
4 cas = 6 minutes 30 secondes
33 cas = compris entre 4 minutes 30 sec. et 6 min.

Soit 82 pour 100 des temps de latence différant entre eux au maximum de 1 minute 30 secondes.

Ces très faibles variations du temps de latence d'un individu à l'autre nous ont paru intéressantes à souligner.

Si nous considérons maintenant la *durée totale* de la coagulation, soit $t + T$, nous avons relevé les valeurs extrêmes de 10 minutes et 23 minutes, avec une proportion de cas répartie de la façon suivante :

t + T compris entre 10 et 12 minutes : 5 fois
t + T compris entre 13 et 18 minutes : 25 fois
t + T égal à 19 minutes : 3 fois
t + T égal à 20 minutes : 4 fois
t + T égal à 23 minutes : 2 fois

Il est donc évident que T — quelques auteurs l'appellent le deuxième temps de la coagulation — est beaucoup moins constant que le temps de latence, ses variations se produisent entre des limites beaucoup moins étroites.

Toutefois, nous croyons possible de dire que chez un individu normal, le *temps de latence t* varie entre *4 minutes 30* et *6 minutes* et que la durée totale de la coagulation demande le plus souvent de *13 à 18 minutes*, par la méthode que nous proposons.

3° Fibrinémie.

Nous n'insisterons pas ici sur l'intérêt de ce dosage dont l'étude a été faite par LIAN, SASSIER, FACQUET et FRUMUSAN [*71*].

Nous nous bornerons à indiquer que chez les sujets normaux étudiés, nous avons toujours trouvé des taux de fibrinogène variant entre 3,50 g. et 5 g. par litre de plasma sanguin.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons entrepris de répéter de façon quotidienne ces examens sur le même individu pendant plusieurs jours.

Nous avons alors été frappées de la remarquable constance des résultats obtenus.

D'un jour à l'autre, nous n'avons enregistré sur la *pro-*

thrombinémie que des différences maxima de *2 pour 100;* quant aux temps *t,* leurs variations étaient au plus de 30 secondes; la *fibrinémie* n'accusant que des écarts inférieurs à 0,10 g. pour 1.000.

On peut donc considérer que pour un individu quelconque, prothrombinémie et temps de coagulation photométrique sont des *constantes biologiques* au même titre que glycémie ou azotémie. A l'état normal, elles ne présentent que de très faibles variations.

Assurées de la fixité de ces facteurs, nous avons voulu chercher ce qu'ils devenaient au cours de certains états pathologiques ou physiologiquement différents de celui de l'adulte normal.

C'est ainsi que nous avons été amenées à considérer successivement le cas :

De la grossesse,
De la tuberculose pulmonaire avec hémoptysie,
Des ictères,
De l'hémophilie.

B. — GROSSESSE

La grossesse ne peut pas être considérée du point de vue clinique comme un état pathologique, mais elle entraîne chez la femme d'importantes modifications physiologiques.

Il était logique de se demander quelles étaient les répercussions de la gestation sur le système sanguin du point de vue de la coagulation, et si, en particulier, dans certains cas, les hémorragies du post-partum pouvaient être imputées à des troubles de la crase sanguine.

Nous avons examiné, entre avril et août 1945, 19 femmes enceintes, à différents moments de leur grossesse et sitôt après l'accouchement.

Pour chacune nous avons procédé à un dosage de prothrombine, un dosage de fibrine, un examen de la coagulation au moyen de l'électrophotomètre de MEUNIER.

1° Prothrombinémie.

Chez toutes ces femmes — sauf une — nous avons constaté :

A) *Avant l'accouchement,* une augmentation de la PROTHROMBINÉMIE.

Elle est généralement de 130 à 160 pour 100, mais peut être beaucoup plus importante : 200 pour 100.

Nous avons même rencontré une fois 400 pour 100, une fois plus de 500 pour 100.

Cette augmentation semble débuter très tôt, puisqu'une femme examinée au troisième mois de sa grossesse présentait déjà un taux de prothrombine de 120 pour 100.

Au septième mois, nous avons trouvé des prothrombinémies à 150 pour 100 et 160 pour 100.

Ces résultats sont en tous points comparables à ceux publiés en 1941 par THORDARSON [*114*]. Cet auteur signale en effet que le taux moyen de la prothrombine augmente de façon importante dès le troisième mois de la grossesse. Le taux maximum qu'il a pu enregistrer est de 310 pour 100.

VON KAULLA (1943) [*58*] signale aussi une hyperprothrombinémie au cours de la grossesse.

Au contraire, en 1941, PORTES et VARANGOT [*94*] ont constaté un nombre important d'hypoprothrombinémies chez la femme enceinte.

Mais ces auteurs ont utilisé comme moyen d'investigation la seule technique de MEUNIER et ont déterminé la prothrombinémie à l'aide du rapport Δ t/t. Ils signalent qu'il faut tenir compte des restrictions alimentaires.

B) *Sitôt après l'accouchement,* nous avons en général constaté une diminution du taux de la prothrombine par rapport à celui existant avant l'accouchement.

Trois cas seulement ont fait exception :

L'une des patientes est passée de 65 pour 100 le jour de l'accouchement — avant le travail — à 75 pour 100 le surlendemain.

Une autre est demeurée au même taux — 130 pour 100 — mais le dernier examen avait été effectué quinze jours avant l'accouchement. La prothrombine a pu augmenter durant cette période.

Enfin, la troisième femme avait présenté une hémorragie de la délivrance malgré un taux de prothrombine de 135 pour 100, et subi une transfusion sanguine à ce moment.

Nous nous croyons donc autorisées à dire que la gestation provoque chez la femme une *hyperprothrombinémie* qui débute relativement tôt et peut atteindre dans certains cas des taux exceptionnellement élevés (500 pour 100), et qu'elle tend à s'abaisser dès les premières heures qui suivent la délivrance.

La diminution du taux de prothrombine étant en général très nette vingt-quatre heures après l'accouchement.

2° Examen photométrique.

Les deux courbes avant et après l'accouchement diffèrent l'une de l'autre, et toutes deux sont différentes de celle d'un sujet normal.

Avant, comme après l'accouchement, la phase d'accroissement rapide de la densité optique est très importante; elle est beaucoup plus accentuée que chez un sujet normal et se présente avec une portion presque rectiligne très proche de la verticale (*cf.* courbes fig. n° 7).

Si nous décomposons la courbe en ses quatre parties, il est facile de constater que dans la courbe post-partum, la phase d'accroissement lent de la densité optique est plus importante que dans la courbe analogue avant la parturition.

En examinant les caractéristiques de ces courbes, nous

avons constaté que chez la femme enceinte, le temps de latence *t* est toujours très voisin de 5 minutes. (Dans 52 pour 100 des cas, il était compris entre 5 minutes 30 et 4 minutes 45. et les variations extrêmes ont été 4 minutes et 6 minutes.)

T s'est montré beaucoup moins constant, puisque nous avons constaté des valeurs s'étageant entre 6 minutes et 13 minutes, avec toutefois une prédominance pour les valeurs comprises entre 8 et 10 minutes.

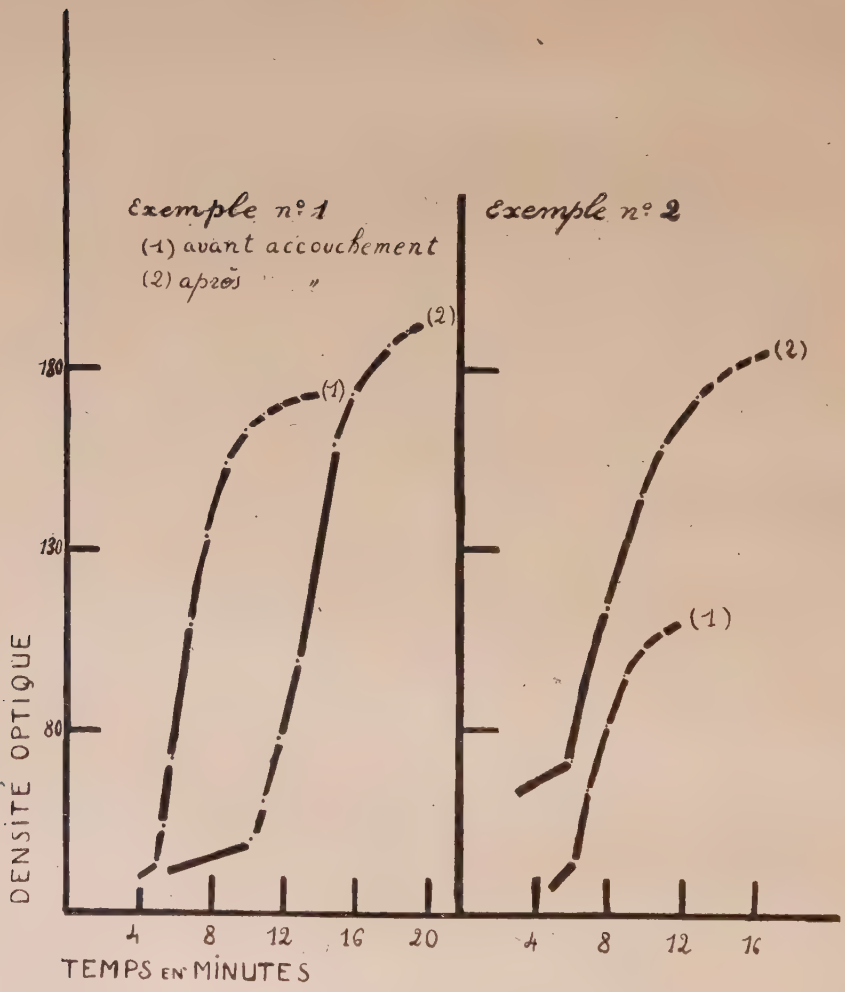


Fig 7

La coagulation de la femme *enceinte* est donc peu différente de celle de l'adulte normal, quoiqu'un peu plus rapide, la diminution venant surtout du raccourcissement du deuxième temps (T).

Que deviennent ces valeurs après accouchement?

En général, *t* diminue; nous n'avons constaté que quatre exceptions sur 19 cas.

T au contraire s'est toujours — sauf un cas — trouvé allongé après l'accouchement.

3° Fibrinémie.

La fibrinémie de la femme enceinte est assez variable, mais en général assez *élevée* entre 5 et 6 g.; nous avons rencontré un taux de 7 g. chez certaines patientes.

Nous avons constaté dans 11 cas sur 19 une élévation de ce taux après l'accouchement.

C. — ETATS PATHOLOGIQUES

En laissant de côté le cas où un individu saigne par suite d'un traumatisme, il reste un certain nombre d'affections dans lesquelles l'hémorragie est un accident fréquent. Dans ce cas, où on ne peut incriminer une cause mécanique, l'hémorragie peut provenir d'un trouble plus ou moins important de la crase sanguine. L'hémophilie et l'ictère sont deux exemples de ces états pathologiques.

Le cas des ictères est assez simple à expliquer, puisque, quelles que soient leurs natures — mécaniques ou infectieux, — il y a un trouble de la synthèse de la prothrombine dans l'organisme, sa réalisation demandant, d'une part un bon fonctionnement de la cellule hépatique, d'autre part un afflux biliaire normal.

L'hémophilie a donné sujet à de multiples hypothèses cherchant à expliquer le retard si important du temps de coagulation des malades atteints de cette affection.

Enfin, certains biologistes ont abordé le problème des rapports possibles entre les hémoptysies survenant dans la tuberculose pulmonaire évolutive et des troubles de la coagulation sanguine.

Nous avons appliqué notre méthode d'étude de la coagulation sanguine à quelques malades présentant l'une ou l'autre de ces trois affections.

1. ICTERES

Nous avons soumis 21 sujets atteints d'ictères plus ou moins graves à notre triple examen.

La nature des affections se répartissait comme suit :

9 ictères par obstruction, comprenant :
- 2 cancers graves de la tête du pancréas.
- 1 cancer des voies biliaires.
- 6 lithiases biliaires dues à des calculs du canal cholédoque.

9 ictères infectieux, comprenant :
6 ictères banaux plus ou moins graves,
1 ictère hémorragique,
1 ictère catarrhal avec complications nerveuses,
1 ictère catarrhal.
1 ictère hémolytique,
1 ictère toxique,
1 ictère dû à une cirrhose d'origine éthylique.

Selon l'importance de l'affection, les répercussions sur les facteurs de la coagulation sanguine ont été différentes.

Les résultats que nous avons obtenus dans les trois séries de dosages sont consignés dans le tableau n° 7. Son examen apporte les renseignements suivants :

1° Fibrinémie.

En 1936, Lian, Sassier et leurs collaborateurs [*71*] ont indiqué l'extrême intérêt de la fibrinémie chez les ictériques, et l'importance de ses variations. Ils sont arrivés aux conclusions suivantes :

Selon la nature de l'ictère, les variations du taux de fibrine se produisent dans un sens différent : dans *l'ictère par obstruction* (calculs obstruant le cholédoque, cancers de la tête du pancréas ou du foie, compression des voies biliaires), la fibrinémie *augmente;* au contraire, s'il s'agit d'un ictère dépendant d'*une lésion plus ou moins importante du parenchyme hépatique* (ictères catarrhaux; hépatites; intoxications par le chloroforme, le tétrachlorure de carbone, le phosphore ou l'arsenic; cirrhose), la fibrinémie *diminue.*

Le dosage du fibrinogène sanguin permet donc la discrimination de ces deux catégories d'ictères.

Nous ne nous arrêterons pas à cette question, si ce n'est pour signaler le plein accord de nos résultats avec cette théorie.

Un seul de nos malades présente une fibrinémie élevée dans un ictère infectieux (7,80 g.), mais cette discordance provient d'une réaction fébrile passagère.

Nous avons pu constater des variations de la fibrinémie considérables, nos chiffres extrêmes étant 1,10 g. et 9,90 g.

2° Prothrombinémie.

La déficience en prothrombine constatée chez les ictériques peut s'expliquer de deux manières. D'une part, le mauvais fonctionnement de la cellule hépatique fait obstacle à la synthèse de cette substance dans le foie; d'autre part, l'irrégularité de l'apport biliaire dans l'intestin — l'absence de bile pouvant être presque totale — nuit à une bonne résorption de la vitamine K par l'épithélium intestinal. Nous avons vu le rôle important que de nombreux auteurs attribuent à cette vitamine dans le mécanisme de régulation de la prothrombinémie (2).

(2) Une publication de Sanford et Shmigelsky [*104*] en 1942 conteste le rôle de la bile dans la formation et l'utilisation de la vitamine K.

Quick et ses collaborateurs ont démontré le rôle essentiel de la déficience en prothrombine dans les troubles de la coagulation observés chez les hépatiques.

Caroli, Lavergne et Bose [*19*], dans une étude du taux de prothrombine au cours des affections hépatiques, notent une diminution de la prothrombine dans les cirrhoses ou les hépatites ictérigènes, et également dans les ictères mécaniques.

Tableau N° 7.

Examen de quelques ictères.

		Prothrombine p. 100	Temps de Coagulation en minutes		Fibrine g p. 100
			t	T	
ictères par obstruction.	The. (neo pancréas)	30	9	21	8,70
	Fira. (neo pancréas)	20	6	12	9,90
	Coc. (neo voies biliaires)	43	11	12	6,50
	Lel. (lithiase biliaire)	100	9	10	3,10
	Luc. (calcul choledoque)	100	7	13	7,85
	Ada.	60	11	9	6,10
	Sim.	50	7	8	7,35
	Mat.	100	4	7	7,25
	Ch.	20	7	8	
ictères infectieux plus ou moins graves.	Bla. fév. 1946	50	7	3	2,40
	mars 1946	100	4	3	3,10
	Tou. nov. 1945	60	7	14	7,80
	janv. 1946	100	5	10	4,80
	Wat.	35	7	5	3,25
	Sou.	75	5	7	1,85
	Ham.	75	6	5	2,55
	Cha.	28	5	5	4,65
	10 oct. 1945				
	Kri. (hémorragies gingivales)	30	11	7,50	4,30
	après vitamK 17 oct.	43	8	12	4,45
	19 Déc.	100	8	8	4,30
	Gai. fév. 1946 (ictère catarrhal)	38	10	9	1,20
	mars 1946	35	7	8	1,10
	avril 1946	39	5	2	1,30
	Tri. (ictère catarrhal)	24	10	5	
	Hot. (ict. hémolytique)	100	4	8	2,15
	AKS. (intoxication par l'arsenic)	30	7	13	5,45
	Baz. (cirrhose)	42	9,5	7,50	

Personnellement, nous avons enregistré des résultats très variables. Il semble impossible d'établir une classification permettant de lier les variations de la prothrombinémie à la nature de l'ictère. Il est incontestable cependant que les malades atteints de cette affection présentent une nette tendance à la prothrombinopénie — sur 27 dosages, 7 seulement montrent un taux de 100 pour 100, et parmi ceux-ci 3 correspondent à l'examen de sang du malade rétabli —, mais cette diminution du

taux de prothrombine est fonction de la gravité de la maladie.

Dans des lithiases biliaires examinées à leur début et n'entravant que faiblement le fonctionnement hépatique, nous avons trouvé des taux de prothrombine normaux (100 pour 100), de même dans certains ictères infectieux bénins.

Au contraire, dès que l'atteinte est plus importante, on voit la prothrombinémie diminuer rapidement.

Cette prothrombinopénie peut devenir extrême (20 p. 100).

Elle peut être définitive avec issue fatale de la maladie : deux malades sont dans ce cas (Fra. avec un cancer du pancréas, et Gai. ictère catarrhal avec complications hémorragiques et nerveuses).

Dans certains cas, graves cependant, un traitement approprié à l'aide de vitamine K permet de rétablir le taux de la prothrombine.

3° Examen photométrique de la coagulation.

Cet aspect du problème est beaucoup plus complexe, et seule la représentation graphique du phénomène peut en rendre compte.

Nous l'étudierons en premier.

Les courbes obtenues peuvent être classées en deux grandes catégories; les unes ont l'aspect classique décrit à propos des sujets normaux, et l'on peut délimiter nettement sur elles les quatre phases du phénomène; les autres, au contraire, se présentent comme des portions d'ellipse; la phase succédant au temps de latence *t* a disparu, les troisième et quatrième phases sont parfois difficiles à délimiter.

A quoi répond une telle différence?

Les courbes de la première catégorie correspondent toutes à des ictériques dont la fibrinémie est élevée.

Chez deux sujets ayant même taux de prothrombine, la plus haute correspond à celui dont la fibrinémie est la plus élevée.

Dans l'ensemble, toutes ces courbes sont plus hautes que des courbes normales.

Si le taux de fibrine semble le facteur prépondérant, il ne faut cependant pas négliger la prothrombinémie; et son abaissement semble jouer un rôle et intervenir pour diminuer la hauteur de la courbe.

Exemple: courbes A et B (fig. 8).

Les fibrinémies sont sensiblement égales — 7,35 g. et 7,25 g. — La courbe la moins haute correspond à la prothrombinémie la plus faible (50 pour 100).

Les courbes de la deuxième catégorie, au contraire, correspondent à des sujets dont la fibrinémie est anormalement faible.

L'influence prépondérante de la fibrinémie sur l'allure de la courbe est manifeste. La prothrombinémie n'intervient que secondairement. Les courbes C et D en sont un exemple frappant. Elles correspondent à deux sujets dont les prothrombinémies sont très voisines ; 38 pour 100 et 43 pour 100.

La durée totale des deux coagulations ne diffère que de 4 minutes et les temps de latence seulement de 1 minute.

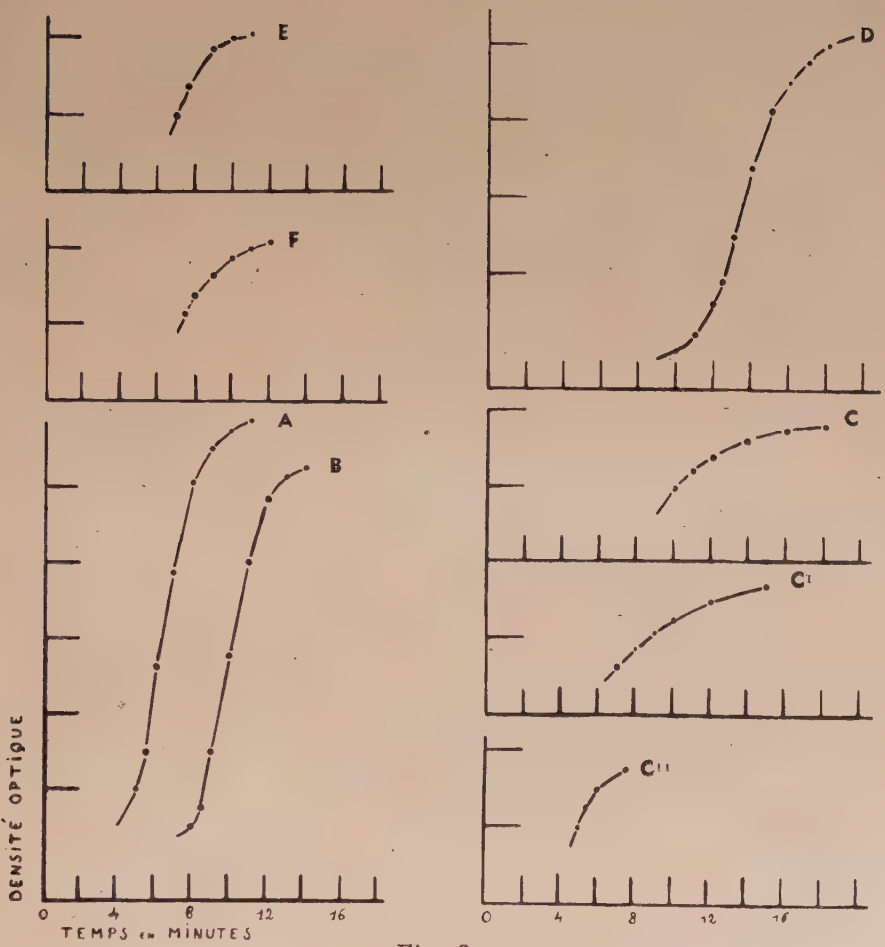


Fig. 8

Il est donc évident que le seul facteur responsable de la dissemblance des courbes demeure la fibrinémie, qui est dans un cas (C) de 1,20 g. et dans l'autre (D) 6,50 g.

En examinant les courbes E et F, il est facile de constater que le taux de prothrombine ne suffit pas à modifier l'allure de la courbe (E = 75 p. 100, et F = 35 p. 100).

Dans ces courbes, que deviennent *t* et *T*?

Dans les ictères mécaniques où le taux de fibrine est élevé, la durée totale de la coagulation est généralement assez longue.

L'allongement porte en général plus sur le temps de latence *t* que sur *T*. Cependant, il n'y a pas de règle absolue.

T, tout en n'étant pas très allongé, demeure en général plus long que *t*.

L'examen de la coagulation chez les sujets à fibrinémie basse se révèle plus délicat. Des valeurs de *t* et de *T* on ne peut

rien déduire. Elles peuvent varier à l'extrême : tantôt elles correspondent à celles d'un sujet normal, tantôt elles sont plus longues, tantôt au contraire on constate un raccourcissement qui pourrait mener à conclure que le sang de ces malades a une tendance à l'hypercoagulabilité.

Cette discordance entre une diminution de la prothrombine concomitante avec une augmentation de la rapidité de la coagulation peut s'expliquer. *T* correspond au temps de précipitation du fibrinogène; dans les cas de fibrinopénie extrême, il devient plus court, même si la précipitation se fait très lentement.

C'est ainsi que devient plausible le fait que dans certains cas, *T* devienne même plus court que *t*.

2. HEMOPHILIE

Nous avons étudié les facteurs de la coagulation sanguine chez des enfants hémophiles traités à l'hôpital Bretonneau.

Chez tous, la *fibrinémie était normale :* 4 g. à 5,50 g. de fibrinogène par litre de plasma.

Pour chacun nous avons pratiqué le dosage de la *prothrombine* suivant le procédé de Quick : en aucun cas la prothrombinémie ne s'est abaissée au-dessous de 75 pour 100, et le plus souvent elle était égale à 100 pour 100.

Ces deux éléments ne peuvent donc être incriminés, et un dosage de l'un ou de l'autre ne peut apporter aucun renseignement permettant au médecin d'étayer son diagnostic.

Au contraire, en suivant la coagulation du plasma citraté, puis recalcifié, mais *sans addition de thromboplastine*, c'est-à-dire en utilisant notre technique électrophotométrique, nous obtenons une courbe tout à fait particulière et très différente de celle d'un individu normal (*cf.* fig. 9).

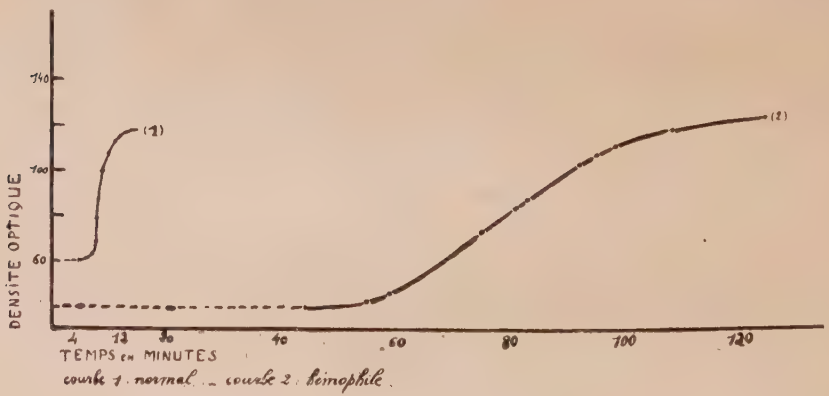


Fig 9

Voici les caractéristiques de ces courbes dans quelques cas typiques choisis parmi une trentaine d'examens chez des enfants suivis pendant plusieurs mois.

Nous ne donnons que t et T, étant donné les réserves que nous avons faites sur le rapport de Meunier $\Delta t/t$, et nous plaçons en tête les valeurs trouvées chez trois sujets normaux, afin de permettre la comparaison.

Sujets normaux

N° 1.....	t = 5 min. 30	T = 9 min. 30
N° 2.....	t = 4 min. 30	T = 10 min. 30
N° 3.....	t = 5 min.	T = 12 min.

Hémophiles

N° 1.....	t = 22 min.	T = 1 h. 20 min.
N° 2.....	t = 42 min.	T = 1 h. 30 min.
N° 3.....	t = 45 min.	T = 1 h. 30 min.
N° 4.....	t = 24 min.	T = 30 min.
N° 5.....	t = 35 min.	T = 2 h. 10 min.
N° 6.....	t = 30 min.	T = 49 min.
N° 7.....	t = 22 min.	T = 53 min.
N° 8.....	t = 20 min.	T = 42 min.
N° 9.....	t = 22 min.	T = 52 min.
N° 10.....	t = 18 min.	T = 42 min.
N° 11.....	t = 24 min.	T = 46 min.

Il est facile de constater que le temps de latence t est très allongé. Alors que nous avons vu que pour un individu normal, t avait une durée maxima de 6 minutes, pour un hémophile cette durée est le plus souvent supérieure à *30 minutes* et jamais inférieure à *15 minutes*.

Cet allongement du temps de coagulation est encore plus marqué sur le deuxième temps T, puisque cette deuxième période s'étend sur plus d'une heure et quelquefois même plus de deux heures.

Le graphique représentant les variations de la densité optique en fonction du temps se présente d'ailleurs de façon très différente de celui d'un sujet normal.

Evidemment, la première partie correspondant à t est beaucoup plus longue — de 4 à 9 fois —. Mais le reste de la courbe est également modifié de façon importante.

La partie de la courbe correspondant à des accroissements rapides de la densité optique n'existe pratiquement pas.

Nous obtenons une courbe très allongée dont la faible inclinaison correspond à des variations de la densité optique peu importantes et assez régulières.

La discrimination entre une phase d'accroissement lent et une d'accroissement rapide de la densité est pratiquement impossible.

Sans vouloir aborder la discussion du problème de l'hémophilie, qui dépasse les cadres de ce travail, nous croyons pouvoir dire que nos observations concordent avec les importants travaux de Feissly (1944) [*35-37-38*]. Cet auteur conclut que

la partie « homoglobuline » — supportant la fonction prothrombine — n'est pas modifiée dans le sang hémophilique, mais que la fraction « protéïne visqueuse » — sur laquelle repose l'activité thrombokinasique — se montre très peu active, ce qui expliquerait la durée inusitée de la coagulation.

Nous avons pu en effet provoquer un raccourcissement considérable de la coagulation par addition de 0,1 cm^3 de notre émulsion de thromboplastine dans la cuve de l'électrophotomètre au moment de la recalcification du plasma.

3. TUBERCULOSE

Bauer [*6*] a étudié les variations de la prothrombinémie de malades présentant une tuberculose pulmonaire évolutive sévère; il dit avoir constaté chez eux un abaissement important du taux de la prothrombine sanguine. En particulier, il rapporte que, sur dix malades examinés au cours d'hémoptysie, cinq présentaient une diminution importante de la prothrombinémie.

Nous avons procédé à l'examen de 63 malades, hommes et femmes, hospitalisés pour tuberculose pulmonaire. Parmi eux, 75 pour 100 avaient été ou étaient sujets à des hémoptysies importantes.

1. Prothrombinémie.

Alors que nous nous attendions à trouver des taux de prothrombine relativement bas, et cela d'autant plus que le malade aurait présenté des hémoptysies importantes, nous avons constaté que la prothrombine oscillait chez nos malades entre *50 pour 100* et *160 pour 100*, le nombre des *hyperprothrombinémie* étant beaucoup plus élevé que celui des *hypoprothrombinémie.*

Nous avons pu établir la statistique suivante :

— Chez 15 malades, la prothrombinémie était supérieure à 100 pour 100, avec prédominance des valeurs comprises entre 110 et 130 pour 100.
— Chez 31 malades, nous avons trouvé 100 pour 100.
— Chez 14 malades, la prothrombinémie variait entre 75 et 100 pour 100.

Enfin, nous avons rencontré :

1 fois 60 pour 100,
1 fois 50 pour 100,
1 fois 37 pour 100.

Cette dernière malade — une femme accusant des hémoptysies importantes — a vu son taux de prothrombine se relever et atteindre 60 pour 100 en dix jours à la suite d'un traitement par la vitamine P P à doses élevées.

Nous avons donc établi le pourcentage suivant :
23 pour 100 de tuberculeux avec prothrombinémie supérieure à 100 pour 100,

49 pour 100 de tuberculeux avec prothrombinémie égale à 100 pour 100,
24 pour 100 de tuberculeux avec prothrombinémie comprise entre 100 et 75 pour 100,
4 pour 100 de tuberculeux avec prothrombinémie inférieure à 75 pour 100.

50 pour 100 des individus dont la prothrombinémie dépasse 100 pour 100 étaient des hémoptysiques.

Ces constatations paraissent de nature à empêcher d'établir une relation de cause à effet entre les variations de prothrombine et les hémorragies de la tuberculose pulmonaire.

Il semble d'ailleurs plus normal de ranger l'hémoptysie parmi les hémorragies dues à un traumatisme, puisqu'elle résulte de la rupture d'un vaisseau sanguin, sous l'action nécrosante du bacille sur les tissus.

2. La courbe électrophotométrique.

représentant la coagulation, n'offre pas d'aspect très particulier, ni très différent de celui d'une courbe normale.

3. Fibrinémie.

Les variations de la fibrine se sont échelonnées entre 3 g et 8 g.; mais avec une très forte majorité de valeurs comprises entre 4 et 6 g., donc normales (3).

Nous avons observé :

11 fibrinémies inférieures à 4 g.,
43 fibrinémies allant de 4 g. à 6 g.,
9 fibrinémies supérieures à 6 g., dont 3 supérieures à 7,50 g.

L'élévation de la fibrinémie correspondait en général à un état fébrile.

Ceci ne saurait étonner, puisque Lian, Sassier et leurs collaborateurs [*71*] ont toujours constaté chez les fébricitants une augmentation de la fibrinémie.

(3) Vidal [*117*] étudiant les variations du fibrinogène chez des tuberculeux hémoptoïques, a également enregistré chez eux une augmentation de ce protide plasmatique.

APPLICATION DE NOTRE METHODE A L'ETUDE DE L'HYPOPROTHOMBINEMIE ARTIFICIELLE

Ce chapitre est consacré à étudier la coagulation sanguine dans ses rapports avec un problème clinique important :

la lutte contre les thromboses.

D'après DALE et JAQUES, l'inhibition de l'agglutination des plaquettes est le premier pas dans la prévention des thromboses.

Or, on a constaté que si le temps de coagulation du sang circulant est prolongé artificiellement de façon importante. et si la prothrombinémie est fortement abaissée, l'agglutination des plaquettes ne se produit plus.

QUICK a constaté (1936) que la ponction du cœur chez les lapins dont la prothrombinémie est abaissée à moins de 10 pour 100 est invariablement suivie d'hémopéricarde.

Ce fait mettait en lumière l'incapacité de l'organisme à former un thrombus pour oblitérer l'ouverture pariétale.

La mesure du temps de coagulation — ou plus exactement de la prothrombinémie — interviendra donc comme moyen de contrôle des effets thérapeutiques de la médication employée.

Pour provoquer ce retard de la coagulation sanguine, on s'est adressé à des anticoagulants divers : produits plus ou moins définis du point de vue chimique.

Un premier groupe de ces substances ne nous arrêtera pas, car elles ne présentent qu'une *faible efficacité* thérapeutique par rapport à leur *grande toxicité* aux doses actives : CITRATE DE SODIUM, HYPOSULFITE DE SODIUM, HIRUDINE, NOVHIRUDINE, GERMANINE (1).

D'autres, au contraire, sont utilisées en clinique avec plus ou moins de succès.

L'HÉPARINE (2) a pu être employée de façon suivie avec des résultats assez satisfaisants. Elle est actuellement utilisée pour le traitement des thromboses déjà déclarées; elle est surtout efficace si celles-ci sont récentes.

D'après VON KAULA [57], elle empêche l'extension de la thrombose; le coagulum intravasculaire est lysé rapidement par les ferments protéolytiques.

Cependant, nous devons signaler que cette substance présente un certain nombre d'inconvénients :

— Prix élevé venant des difficultés de la préparation et surtout de la purification.

Nécessité de répéter plusieurs fois en 24 heures les injections intraveineuses, car son action est fugace. à moins d'employer la perfusion continue, méthode canadienne, qui

(1) GERMANINE = MORANYL = NAGANOL = 205 BAYER = 309 FOURNEAU,
(2) Voir la chimie de l'héparine ; 1re partie, p. 21,

ne va pas sans inconvénients d'ordre pratique et même locaux [*88*].

— Possibilité d'hémorragies brutales imprévisibles.

L'ACÉTATE DE NÉODYME a été recommandé par DYCHEROFF [*33*] et par KLOSTERMEIER [*61*] comme prophylactique de la thrombose (1942-1943).

KLOSTERMEIER utilise des ampoules de 5 cm³ d'une solution à 10 pour 100 qu'il administre par voie intra-veineuse.

Le produit aurait une action antiprothrombine élective : précipitation de la prothrombine sans influence sur le fibrinogène.

Son obtention est facile, son prix de revient bas.

Son effet persiste 12 à 24 heures après une injection intraveineuse unique.

L'action de l'ACIDE SALICYLIQUE et des SALICYLATES a été étudiée par différents auteurs.

LINK [*74*] (1943) montre que chez des rates maintenues à un régime pauvre en vitamine K, l'acide salicylique administré *per os* ou par voie intra-veineuse provoque une hypoprothrombinémie avec hémorragie, à condition que les doses soient répétées.

Chez des enfants de 6 à 14 ans, RAPPOPORT, WING et GUEST [*99*] (1942) déterminent avec des doses de 6 à 8 g. par jour une chute de la prothrombinémie à 50 pour 100.

MEYER et HOWARD [*84*] (1943) obtiennent de même une chute de la prothrombinémie chez l'adulte avec 5 g. d'acide salicylique par jour pendant 3 à 11 jours. Dans presque tous les cas se produit une chute à 50 pour 100, et en même temps une légère prolongation de la coagulation.

En 1943, SHAPIRO a étudié les effets de la vitamine K synthétique sur la prothrombinopénie produite par les salicylates et l'acide acétylsalicylique, et indique qu'il faut 1 mg. de vitamine K synthétique pour compenser la prothrombinopénie consécutive à l'absorption de 1 gramme d'aspirine [*108*].

La SULFAGUANIDINE et le SUCCINYLSULFATHIAZOL sont également susceptibles dans certaines conditions de provoquer une hypoprothrombinémie [*61 bis*].

Mais tous ces corps sont loin de posséder l'activité d'un dérivé de la coumarine étudié depuis peu et récemment entré dans la thérapeutique courante aux Etats-Unis et en Suède [*121*].

Il fera l'objet des chapitres suivants.

LE DICOUMAROL

1° Historique.

Des observations faites chez des bovidés d'Amérique du Nord sur une maladie hémorragique provoquant des accidents graves et souvent mortels au moment de la castration des jeunes taureaux, ont conduit à la découverte d'une substance chimique définie : la *dicoumarine* ou *dicoumarol*, qui agit spécialement sur la prothrombine en faisant obstacle à sa synthèse dans l'organisme (3).

(3) De plus, d'après SPOONER et MEYER [*110*] (1945), elle diminue sensiblement la faculté d'agglutination des plaquettes sanguines.

En 1921, SCHOFIELD décrit au Canada une maladie hémorragique grave qui frappe le bétail. La mort peut survenir si une blessure se produit. Il l'attribue à l'ingestion de foin moisi provenant des trèfles, *Melilotus alba* et *Melilotus officinalis*, d'où le nom de « *sweet clover disease* », *maladie du trèfle doux, maladie du mélilot gâté.*

La même année, RODERICK [*102*] a étudié cette affection.

Il a constaté que les hémorragies apparaissent en différents points, principalement dans le tissu sous-cutané et dans le fascia musculaire. Les vaisseaux sanguins ne présentent aucune lésion capable d'expliquer l'hémorragie. Il met en évidence l'allongement du temps de coagulation et conclut que la cause du retard de coagulabilité est une diminution progressive de la prothrombine du sang.

Ces conclusions sont confirmées par QUICK en 1937, qui réussit à reproduire expérimentalement la maladie chez le lapin.

En 1934, le professeur K. P. LINK (de l'Université de Wisconsin) chercha à identifier le facteur toxique du trèfle doux gâté.

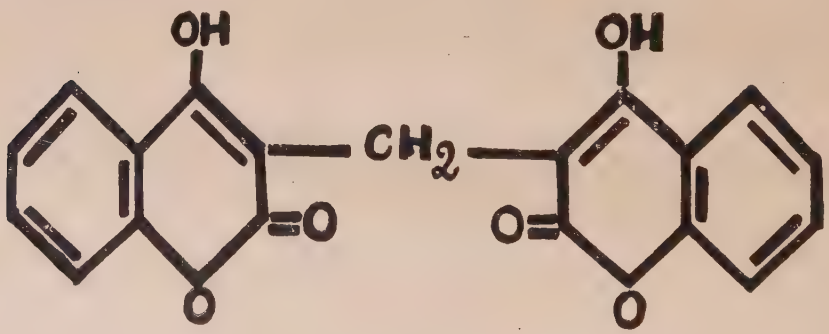
Il a pu isoler et faire cristalliser le principe actif, qui est un *composé de la coumarine.*

A l'état pur, le produit est un corps cristallisé optiquement inactif; sa solubilité est faible dans les solvants organiques habituels; il est soluble dans les alcalis dilués.

CAMPBELL, ROBERTS, SMITH et LINK [*17*] ont obtenu une réduction de la prothrombine à 10 pour 100 en administrant 0.60 g. du produit purifié à des lapins.

LINK a réalisé la synthèse de la substance biologiquement active (1940-1941).

STAHMAN, HUEBNER et LINK [*111*] ont démontré que l'agent hémorragique de formule brute C_{19} H_{12} O_6 était *la 3.3' méthylène-bis-4 hydroxycoumarine* (4).



DICOUMARINE

(4) Ce corps était connu depuis longtemps déjà puisque sa synthèse avait été réalisée en 1903 par le chimiste allemand ANSCHUTZ.

Huebner et Link ont fait la synthèse de la Δ dicétone dérivée de la dicoumarine [*50*], et pour Jansen [*51*] l'effet hémorragique semble lié de façon spécifique à la formule méthylène-bis-oxycoumarine.

Cette dicoumarine proviendrait de la transformation de la coumarine (5) du trèfle sous l'influence de champignons inférieurs.

2° Action générale.

La méthylène-bis-hydroxycoumarine — souvent désignée dans les publications anglo-saxonnes simplement par les lettres M.B.H.C., initiales du nom chimique — et son sel sodique sont maintenant obtenus assez facilement.

Aux Etats-Unis et en Suède, les deux composés sont entrés dans la thérapeutique; la première s'administre *per os*, le second par voie intra-veineuse (6) (7).

Tous deux provoquent un abaissement de la prothrombinémie. Shapiro suppose qu'il se formerait dans l'organisme deux molécules d'acide salicylique par molécule de dicoumarine, et que ce serait un des produits de dégradation du salicylate qui agirait sur la prothrombine [*107*].

Quick [*97*] fait remarquer que l'on peut rapprocher l'empoisonnement par la dicoumarine de l'intoxication par l'oxyde de carbone. Tous deux s'attaquent à une importante fonction vitale sans troubler les autres fonctions de l'organe intéressé.

La dicoumarine s'oppose à la synthèse de la prothrombine, mais sans troubler les autres fonctions du foie.

Elle est sans action sur les éléments figurés du sang (hématies, leucocytes, plaquettes) [*124*].

De nombreuses recherches ont été entreprises pour déterminer les modalités de leur action biologique.

Les études ont été faites sur différents animaux de laboratoire et aussi sur l'Homme [*53*].

Lehmann [*67*] a étudié son action chez le Lapin et indiqué que 1 à 4 mg. provoquent déjà un abaissement du taux de la prothrombine; 512 mg. représentent une dose toxique mortelle pour l'Animal adulte. Von Kaulla [*57*] a confirmé ces faits, en notant toutefois que la sensibilité individuelle des Lapins était très variable.

Bingham, Meyer et Pohle [*8*] ont expérimenté le produit sur des Chiens. Ils ont étudié la question du fractionnement des doses et ont conclu qu'une dose unique massive *per os* était moins toxique que des doses plus faibles répétées.

---

(5) Il est intéressant du point de vue théorique de remarquer que si la dicoumarine se comporte comme une antivitamine K, la mono-coumarine a une action vitaminique K. De même, alors que le phtiocol a une activité vitaminique K, le produit obtenu par doublement de sa molécule a une action antagoniste. Il semblerait donc que le doublement de la molécule permette d'obtenir un composé à action opposée.

(6) Le pH de ces solutions est supérieur à 8, elles sont très alcalines, ce qui est un gros inconvénient pour les injections.

(7) De novembre 1941 à avril 1944, la dicoumarine a été employée dans 1.656 cas à la clinique chirurgicale de Lund. Bruzelius relate, dans un article de 219 p., les modalités de son emploi, les résultats obtenus, les accidents survenus [*13 bis*].

Chez le Chien, ils ont obtenu des modifications du temps de prothrombine avec des doses de 3 à 8 mg. par kilog. *per os* et de 1 à 2 mg. par kilog. par voie intra-veineuse, la dose maxima tolérée suivant ce mode d'administration étant de 25 mg. par kilog.

Chez l'Animal, il existe donc une marge de sécurité importante entre les doses actives et les doses toxiques.

D'autre part, les auteurs ont remarqué [*8*] que les doses thérapeutiques ou mortelles administrées aux chiens n'ont provoqué aucune modification pathologique du foie ou d'autres organes parenchymateux, mais qu'elles amènent très souvent une dilatation des capillaires, des artérioles et des petites veines.

Bollmann et Preston [*11*] ont pu maintenir chez des chiens un temps de prothrombine double ou triple de celui existant normalement sans inconvénient pour ceux-ci.

Olivier et Mattéi [*90*] ont également fait des recherches sur l'action préventive et curative du dicoumarol sur les thrombophlébites chez le Chien.

Les doses thérapeutiques utilisées chez l'Homme sont variables suivant les auteurs. Tous recherchent la quantité nécessaire pour maintenir la prothrombinémie à un taux tel que la thrombose ne puisse plus se produire ou soit enrayée.

Bingham, Meyer et Pohle [*8*] pensent que des doses de 100 à 300 mg. sont suffisantes. Butt, Allen et Bollmann [*15*] donnent jusqu'à un gramme en une dose unique *per os*.

Von Kaulla [*57*] signale des troubles après absorption de 125 à 375 mg. : nausées, diarrhées, vertiges.

Lehmann [*68*] donne une première dose de 250 mg., suivie de 250 à 125 mg. les jours suivants et prolonge son traitement quatre à six semaines. Il a constaté des hémorragies légères dans 10 pour 100 des cas et 1 pour 100 d'hémorragies plus graves, qu'il fallut maîtriser par la vitamine K et la transfusion.

Butsch et Steward [*14*] administrent seulement 300 mg. *per os* en deux jours successifs.

En France, on a également expérimenté la dicoumarine.

Jeanneret [*54*] l'utilise à la dose quotidienne de 2 mg. par kilog. pendant 8 à 12 jours et constate une tolérance digestive excellente.

Il signale au cours du traitement un abaissement du taux des protides sanguins et du rapport sérine-globuline.

J. Ravina [*100*] préfère une dose unique, plus forte, de 0.60 g. (généralement 1 cg. par kilog.), qu'il renouvelle huit jours après la première prise.

Seul Bouvrain [*12*] signale des accidents graves après l'absorption de dicoumarine : hémorragies sérieuses et même un cas mortel. Mais cet auteur a donné des quantités énormes du produit : 1.60 g. à 2.20 g. échelonnés sur seulement 9 à 13 jours.

A l'heure actuelle, il semble qu'en Amérique la posologie soit établie de la façon suivante : 300 mg. le premier jour, puis doses variables de 100 à 200 mg. les jours suivants, de façon à maintenir le taux de prothrombine entre 30 et 60 pour 100 [*125*].

Le traitement doit être poursuivi parallèlement à l'évolution de la courbe de la prothrombinémie.

3° Travaux personnels.

Nous avons personnellement, sous le contrôle médical du Docteur Facquet, chef de service à l'hôpital Tenon, étudié les répercussions de la méthylène-bis-hydroxycoumarine sur le taux de la prothrombine, le temps de coagulation et le fibrinogène. Notre étude a été faite principalement sur des individus considérés comme normaux du point de vue de la crase sanguine. Quelques essais furent également tentés sur des malades présentant phlébites ou embolies, et des thromboses oculaires [*34*].

L'absorption, *per os*, du produit n'a provoqué aucune intolérance digestive, et *jamais*, même avec les plus fortes doses, nous n'avons constaté d'hémorragies.

Nous avons suivi nos sujets aussi régulièrement et aussi longtemps que possible. Cependant, ceux-ci ont parfois quitté le service avant la fin du traitement ou refusé de continuer à subir les prises de sang (9), ce qui a plus ou moins entravé nos recherches.

Nos premiers essais ont comporté des doses variables de produit administrées *per os* en une fois, doses relativement faibles d'abord (300 mg.), pour aboutir à la dose de 1 gramme que nous n'avons jamais dépassée pour une prise.

Par la suite, les patients reçurent systématiquement *1 cg. de dicoumarine* (10) par *kilogramme de poids corporel*, la quantité totale étant administrée en une fois.

Enfin, dans une autre série d'expériences nous avons cherché à maintenir pendant plusieurs jours la prothrombinémie à un certain taux, inférieur ou au maximum égal à 40 pour 100. Pour cela, il a fallu répéter les prises de médicament au moment où la prothrombinémie s'élevait au-dessus d'une certaine valeur, les doses secondaires étant toujours plus faibles que la dose initiale.

Le médicament a toujours été administré *per os*.

Les malades étaient examinés du point de vue sanguin avant la prise des comprimés, puis autant que possible chaque jour à partir du lendemain, et toujours à jeun.

Nous avons pu constater que *tous les individus* ayant absorbé des doses égales ou supérieures à 400 mg. ont vu leur prothrombinémie s'abaisser, cette diminution de la prothrombine étant d'ailleurs variable avec la dose administrée et avec la sensibilité de chaque patient.

Quelle que soit l'intensité de l'action, la diminution de la prothrombinémie est en général appréciable environ 24 heures après la prise du médicament; elle va en s'accentuant les jours suivants, pour passer par un maximum le troisième ou le quatrième jour: le taux de prothrombine commence alors à remonter plus ou moins rapidement.

Le retour à la normale s'effectue plus ou moins lentement, selon la dose absorbée et selon les individus. Avec des doses

(9) La micro-méthode nous a rendu de grands services pour ce genre d'expérimentation.

(10) Comprimés d'Akavyl dosés à 0,05 g. de produit actif, fournis par les Laboratoires Roussel.

moyennes, l'action du médicament s'étage sur une huitaine de jours (11).

Voici, groupés dans le tableau n° 8, quelques résultats illustrant ces observations.

Il est facile de constater chez *tous les sujets* une diminution de la prothrombinémie; mais d'un individu à l'autre, les réactions sont assez variables.

Les sujets A, B et C ont réagi de la façon suivante à une dose de 400 mg.:

La prothrombinémie du sujet A s'est abaissée jusqu'à 25 pour 100, et celle des deux autres seulement à 45 pour 100 et à 44 pour 100.

Pour les deux premiers, l'action s'est prolongée 6 jours, pour le troisième 48 heures seulement.

Avec 500 mg.: les chutes maxima ont été variables, allant de 50 pour 100 (sujet F) à 10 pour 100 (sujet N).

Le retour au taux de prothrombine initial s'est effectué plus ou moins lentement :

DICOUMARINE en mg.		TAUX DE PROTHROMBINE POUR 100. JOURS												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
400	A	70	25	25		35		75						
	B	100	44	42			64							
	C	100	45	75										
500	D	100	75	25					100					
	E	100	60	45	45			105						
	F	100	100	50	50	50		120						
	G	105		25	15	25		28						
	H	100			38				48					
	I	100		58	44		80	80						
	J	65			45	50					100			
	K	100		35										
	L	100		37		30								
	M	100		26		37				50				
	N	100	60	19	10		33	40						
700	O	100		28		19		28		40				
	P	56		10	<10		22							
	Q	100		39	15			18			50			
	R	100			48			60						
1.000	S	150		25	10	20		20			22			60
	T	100		46	10	11	17			23				
	U	100		56	18	15	30			30				

Tableau N° 8.
Prothrombinémie de quelques sujets ayant absorbé des doses uniques de dicoumarine.

(11) D'après une publication américaine de 1944 [97] presque tous les auteurs ayant utilisé la dicoumarine, à dose unique, signalent une diminution de la prothrombinémie atteignant son point le plus bas en 48 à 96 heures et retour à la normale en une semaine environ. Crawford et Nassim [28] signalent comme étant une réaction inhabituelle au traitement à la dicoumarine le cas d'un malade chez lequel l'action du produit ne s'est manifesté qu'après un délai très prolongé.

Chez 5 malades sur 11, en 6 ou 7 jours,
Chez un (sujet I), en 9 jours.

Chez tous les autres, le taux de prothrombine n'était pas rétabli le neuvième jour, et même chez l'un d'eux (sujet G) il était seulement de 28 pour 100 à ce jour.

700 mg. ont toujours entraîné une chute importante de la prothrombinémie.

Enfin, avec 1 gramme, la prothrombinémie s'abaisse à 10 ou 15 pour 100 — toujours sans accidents hémorragiques, — et le retour à la normale est encore plus lent : il n'était pas effectué après 13 jours chez un malade (S) pour lequel nous avons pu prolonger les examens de sang jusqu'à cette date.

Chez les deux autres, la prothrombinémie était encore égale ou inférieure à 30 pour 100 au huitième jour (date à laquelle nous avons été obligées de cesser les prises de sang).

Nous donnons ci-dessous quelques courbes (fig. 10) représentant les variations de la prothrombinémie chez des sujets ayant absorbé soit 0,50 gramme, soit 1 gramme de dicoumarine.

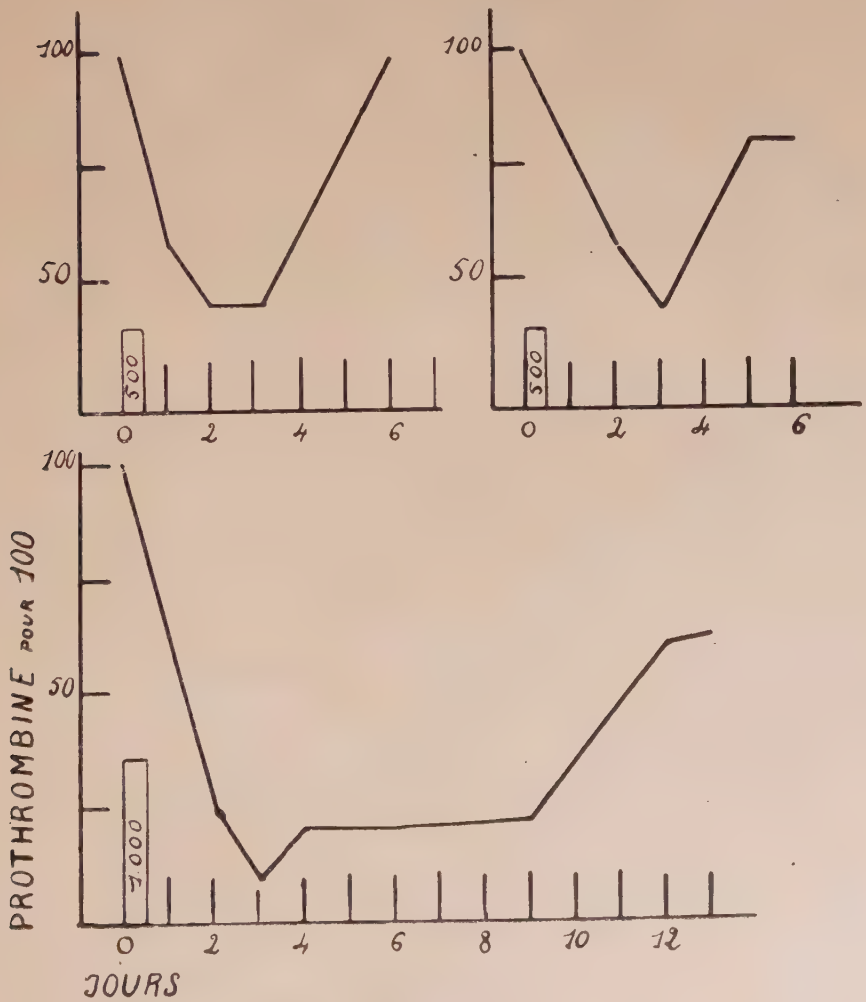


Fig. 10

Les répercussions de doses répétées de dicoumarine sur la prothrombinémie ont été les suivantes :

1) Une femme hospitalisée pour phlébite reçoit une dose initiale de 300 mg. *per os*, qui ne provoque aucune modification de la prothrombinémie; cinq jours après cette première prise, elle reçoit à nouveau 300 mg. Cette fois, après 48 heures, la prothrombinémie tombe à 42 pour 100. Mais l'action est encore de courte durée puisque, cinq jours après la deuxième prise, le taux de prothrombine atteint déjà 70 pour 100.

La malade présentant à ce moment une phlébite du membre inférieur opposé, il lui est administré encore 300 mg.; le lendemain, la prothrombinémie n'était plus qu'à 44 pour 100, et cinq jours après cette troisième prise, elle était seulement de 54 pour 100.

L'action de cette dernière dose de médicaments s'est donc manifestée de façon plus rapide, et sa durée a été plus importante que celle des deux précédentes.

Il est possible d'admettre l'hypothèse d'une sensibilisation de l'organisme ou d'une accumulation du médicament du fait de doses faibles, mais répétées.

2) Pour une phlébite post-opératoire, chez un adolescent, il a été donné une première fois 500 mg. (soit 1 cg. par kilogramme de poids corporel), puis, six jours après, 300 mg.

Nous avons pu observer chez ce malade un taux de prothrombine inférieur à 40 pour 100 pendant sept jours (du deuxième au huitième jour); le retour à la normale s'est effectué brutalement à partir du dixième jour. L'amélioration clinique s'est manifestée cinq jours après la première prise de dicoumarine.

3) Dans un cas de thrombose oculaire, nous avons eu les résultats suivants, après absorption d'une dose initiale de 700 mg. (correspondant toujours à 1 cg. par kilog.) :

Le premier examen a été fait quelques heures avant la prise du médicament, nous appelons ce jour 0.

Les premiers examens de sang ont été faits aux jours 3, 4 et 7 et ont donné respectivement 18 pour 100, 25 pour 100, 45 pour 100, pour un taux initial de prothrombine de 100 pour 100.

Au septième jour, le malade a repris 400 mg. de dicoumarine et son sang examiné au jour 11 accusait une prothrombinémie encore très faible : 28 pour 100. Le malade ayant quitté le service à ce moment, nous n'avons pu poursuivre les examens jusqu'au retour du taux de prothrombine à la normale

Enfin, en opérant toujours dans les mêmes conditions, voilà les observations de deux malades soignés pour embolie de l'artère centrale de la rétine.

Tous deux ont reçu une dose initiale de dicoumarine correspondant à 1 cg. par kg. de poids corporel.

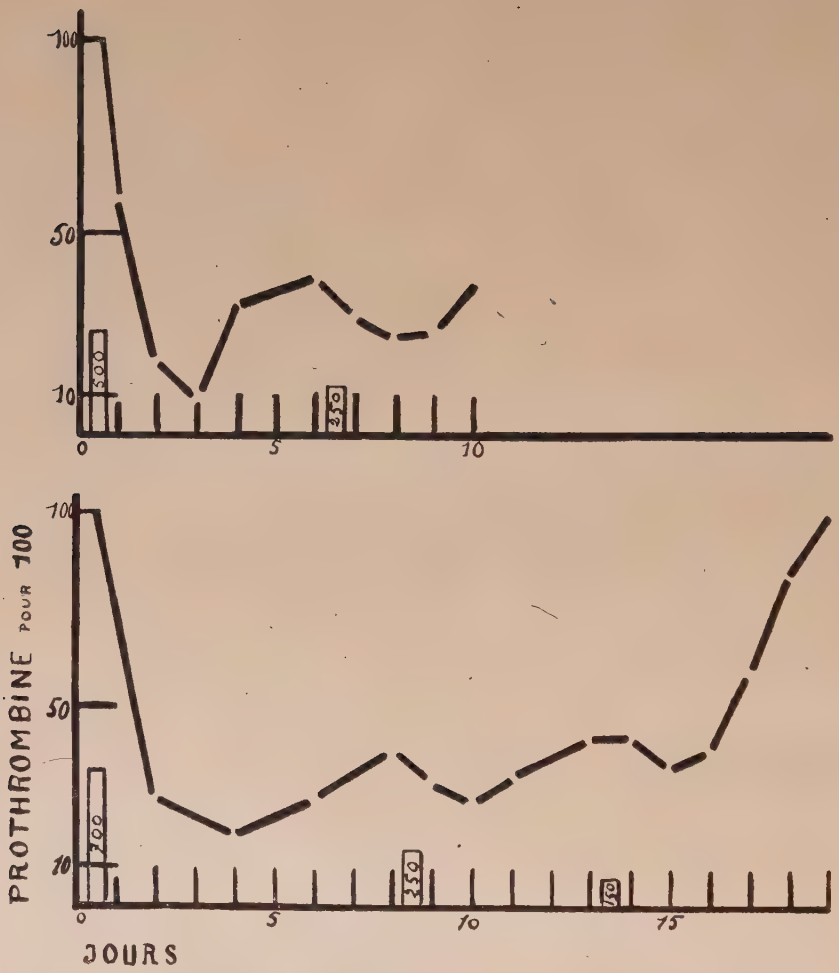
Sujet V.

Jours	Dose en mg.	Prothrombine p. 100	Observation
0	500	100	Le médicament est toujours administré après avoir effectué le dosage de prothrombine du jour correspondant. Le 1er minimum sur la courbe se place au 3e jour. Lorsque la prothrombine atteint 40 p. 100 le malade reprend une nouvelle dose. Le 2e minimum, moins important que le 1er, se produit seulement 48 heures après la prise des comprimés. La prothrombine a pu être maintenue au-dessous de 40 p. 100 jusqu'au 10e jour.
1		60	
2		19	
3		10	
5		33	
6	250	40	
7		30	
8		25	
9		26	
10		38	

Sujet W.

Jours	Dose en mg.	Prothrombine p. 100	Observation
0	700	100	Les premiers examens de sang n'ont pu être pratiqués que de 2 en 2 jours, si bien qu'il est impossible de conclure sur la date exacte du 1er minimum. La dose initiale, importante, a maintenu la prothrombinémie à un taux inférieur à 40 p. 100 pendant 8 jours. Les doses suivantes administrées au 8e et au 12e jour ont provoqué une chute plus faible que la 1re et se produisant 48 heures seulement après la prise du médicament. L'ensemble du traitement s'étageant sur 18 jours, nous avons pu, en administrant des doses faibles, après la dose initiale habituelle, maintenir la prothrombinémie à 40 p. 100 et au-dessous pendant 16 jours et cela, sans inconvénient pour le patient.
2		28	
4		19	
6		28	
8	250	40	
9		32	
10		27	
11		33	
12	150	43	
14		43	
15		36	
16		40	
17		60	
18		85	
19		100	

La figure 11 ci-contre représente les courbes de variations de la prothrombinémie de ces deux malades pendant la durée du traitement.



1re *courbe : Sujet V.*
2e *courbe : Sujet W.*

Fig 11

Signalons que malgré leur prothrombinémie fortement abaissée, ces deux derniers malades étaient des consultants venant chaque matin à l'hôpital par leurs propres moyens et se livrant sans inconvénient à leurs occupations coutumières.

De ces quelques cas, malheureusement trop peu nombreux, nous tirerons les conclusions suivantes :

1) A l'aide de la dicoumarine, il est possible de maintenir un taux de prothrombine assez bas; et cela, semble-t-il, sans inconvénients pour le patient;

2) Pour provoquer une baisse suffisante de la prothrombi-

némie, la dose initiale de 1 cg. par kilogramme de poids corporel nous paraît la plus favorable.

La deuxième dose doit être administrée seulement lorsque la prothrombinémie commence à se relever, le moment le plus favorable paraissant celui où elle tend vers 40 pour 100.

Une troisième dose inférieure à la seconde permet de prolonger encore l'action du médicament. Le jour propice à l'absorption de la deuxième prise se situerait entre le sixième et le huitième jour, selon la quantité initialement donnée.

De toutes façons, étant donné les différences de réceptivité des malades, il est *indispensable* de suivre de très près les variations de la prothrombinémie durant tout le traitement et de ne répéter la médication que lorsque l'examen de sang indiquera sa nécessité. En opérant de cette façon, nous n'avons jamais constaté d'accidents hémorragiques chez les malades que nous suivions.

Il est donc important de souligner *l'impossibilité absolue* de poursuivre un traitement à la dicoumarine de *façon précise et dans des conditions de sécurité suffisantes* sans le secours du laboratoire.

Il nous reste maintenant à étudier les répercussions de la dicoumarine sur le temps de coagulation et le fibrinogène.

Que devient le temps de coagulation d'un sujet soumis au traitement à la dicoumarine? Là encore, résultats variables d'un individu à l'autre, mais une grande règle :

Les variations du temps de coagulation sont fonctions du taux de prothrombine. Tant que celui-ci demeure au dessus de 35 pour 100, la coagulation ne subit aucune modification appréciable. Mais dans *tous les cas* où la prothrombinémie s'est abaissée au-dessous de *30 pour 100,* nous avons constaté un allongement du temps de coagulation.

Les exemples qui suivent illustreront cette observation.

DIMINUTION MAXIMA DE LA PROTHROMBINE	VARIATIONS DE t + T
cas 1..... 10 pour 100	t + T passe de 12 min. à 25 min.
cas 2..... 10 pour 100	t + T passe de 11 min. à 38 min.
cas 3..... 10 pour 100	t + T passe de 16 min. à 35 min.
cas 4..... 15 pour 100	t + T passe de 14 min. à 23 min.
cas 5..... 15 pour 100	t + T passe de 8 min. à 24 min.
cas 6..... 28 pour 100	t + T passe de 23 min. à 50 min.
cas 7..... 15 pour 100	t + T passe de 14 min. à 26 min.
cas 8..... 20 pour 100	t + T passe de 13 min. à 22 min.
cas 9..... 18 pour 100	t + T passe de 15 min. à 23 min.
Au contraire :	
cas 1'..... 45 pour 100	t + T ne varie pas
cas 2'..... 44 pour 100	idem
cas 3'..... 65 pour 100	idem
cas 4'..... 37 pour 100	idem
cas 5'..... 37 pour 100	idem

La variation du temps de coagulation n'est ni brusque, ni immédiate; elle se produit en quelques jours. De plus, chute maxima de la prothrombinémie et allongement maximum du temps de coagulation ne sont pas toujours concomitants.

Le plus souvent, il y a décalage entre les variations de l'une et celles de l'autre; on peut même constater un début de redressement de la prophrombinémie, tandis que le temps de coagulation continue à s'allonger.

Pour illustrer cette remarque, voici réunis dans le tableau n° 9 quatre exemples :

Jours	Sujet 1			Sujet 2		
	t min.	t + T min.	P. p. 100	t min.	t + T min.	P. p. 100
0	4	12	56	4	16	100
1						
2	5	13	10	4	15	46
3	6	16	10	7	23	10
4						
5	6,5	25	22	8	31	17
6						
7						
9				10	35	23
12						

Jours	Sujet 3			Sujet 4		
	t min.	t + T min.	P. p. 100	t min.	t + T min.	P.
0	4	11	150	3	8	100
1						
2			25	4	12	25
3	5	20	10	7	20	15
4	7	26	20	8	20	25
5						
6	7,5	26	18	10	24	28
7						
9	11	38	22	8	20	28
12	6	23	60			

TABLEAU N° 9.
Comparaison entre les variations de la prothrombinémie et celles du temps de coagulation.

Les répercussions sur le temps de coagulation sont assez variables.

L'importance des modifications ne semble pas dépendre directement de la prothrombinémie. Elle peut être assez considérable, nous avons vu le temps de coagulation doubler et même parfois tripler.

L'allongement porte à la fois sur le temps de latence *t* et sur le deuxième temps *T*, mais il nous a semblé que dans l'ensemble *t* était proportionnellement plus affecté par l'action du médicament que *T*.

Les variations de la fibrinémie — quand elles se sont produites — ont toujours été très faibles. On note parfois une

légère augmentation passagère de la fibrinémie, mais ne dépassant pas 0,20 ou 0,30 g. et se plaçant au moment de la chute maxima de la prothrombine.

Ceci concorde parfaitement avec la non-toxicité, indiquée par de nombreux auteurs, de la dicoumarine sur le foie.

4° Les antidotes de la dicoumarine en cas d'accidents hémorragiques.

Dans diverses publications relatives à la dicoumarine, il est question d'hémorragies d'importance variable survenues au cours du traitement de certains malades.

Lehmann [*68*] a vu 10 pour 100 de ses malades accuser des hémorragies légères et 1 pour 100 des hémorragies graves.

Sur 374 cas traités par Allen, Barker et Waugh [*3*], 31 malades ont présenté des accidents hémorragiques plus ou moins sérieux.

Même en l'absence de toute hémorragie spontanée, la dicoumarine, nous l'avons vu, provoque chez des sujets très sensibles à son action un abaissement de la prothrombinémie extrêmement important (chute à 15 et même 10 pour 100). Il est donc indispensable de disposer d'un antidote permettant de juguler rapidement les accidents hémorragiques toujours possibles.

La transfusion sanguine, qui apporte tous les éléments d'un sang normal, permet évidemment de rétablir le taux de prothrombine.

C'est ce procédé qui paraît à l'heure actuelle réunir le plus de suffrages; Lehmann [*68*] l'utilise pour maîtriser les hémorragies graves survenues en cours de traitement.

La transfusion de sang total ou de plasma a donné de bons résultats à Allen, Barker et Waugh [*3*]. Bingham, Meyer et Pohle [*8*] utilisent soit le sang total, soit le sérum.

Jusqu'à ce jour, on considérait que, seule, la transfusion de sang *frais* pouvait apporter la prothrombine nécessaire; ceci impliquait la présence rapide d'un donneur. Cette condition n'est pas toujours facile à réaliser. Des travaux récents de Quick [*97*] (1944) permettent de pallier cette difficulté. Pour cet auteur, en effet, la prothrombine serait constituée par l'union de deux facteurs — facteurs A et B — dont l'un seulement — le facteur B — se trouve diminué dans l'intoxication à la dicoumarine. Ce même facteur B se retrouve intact dans le plasma conservé alors que le facteur A en disparaît rapidement. Quick conseille, dans ces conditions, d'utiliser le plasma conservé au même titre que le sang frais.

De toute façon, il reste encore que la transfusion en elle-même n'est pas une opération simple.

Elle doit être pratiquée par un spécialiste. Il faut se méfier des phénomènes de choc possibles.

On a donc recherché un moyen plus simple pour intervenir rapidement et efficacement.

Des travaux américains [*97*] ont établi un parallèle entre

l'intoxication par la dicoumarine et celle produite par l'anhydride carbonique.

Dans l'un comme dans l'autre cas, le toxique lèse une seule fonction de l'organe intéressé et si on élimine l'agent perturbateur ou si on combat son action, l'organe peut récupérer toute sa vitalité. La dicoumarine agissant en empêchant la synthèse de la prothrombine, on a donc pensé qu'il suffirait, pour lutter contre les accidents hémorragiques, d'apporter à l'organisme une substance capable de favoriser cette synthèse. La vitamine K paraissait l'antidote de choix.

De nombreux essais ont été faits d'abord chez l'Animal. Mais comme toute expérimentation biologique, celle-ci est fort complexe : le comportement de différents animaux et de l'Homme n'étant pas le même vis-à-vis de ces produits. Aussi les auteurs ne sont-ils pas toujours d'accord.

En 1937, Quick avait observé que de la luzerne introduite dans la ration alimentaire des Lapins se comportait comme un antagoniste du mélilot gâté; mais en 1938, lorsque Smith reprit ces expériences, il ne réussit pas à démontrer cette action protectrice.

Depuis, de nombreux essais ont été tentés, soit avec la vitamine naturelle, soit avec des composés synthétiques doués d'activité vitaminique K.

Voyons d'abord les réactions de l'Animal et en particulier du Lapin et du Chien.

En 1942, Overman, Stahman et Link [*92*] obtiennent chez *tous* les lapins traités à la dicoumarine une annulation ou une diminution de l'action anticoagulante du produit au moyen de la 2-méthyl-1-4 naphtoquinone.

Tous les auteurs n'ont pas remporté pareil succès et les expériences négatives sont nombreuses. Pour Campbell [*18*], la 2-méthyl-1-4-naphtoquinone n'annihile pas l'hypoprothrombinémie due au mélilot gâté. Von Kaulla [*57-58*] n'a pu enrayer les effets de la dicoumarine chez le Lapin, même en pratiquant une injection intra-veineuse de Synkavit (12) de 300 mg. par kg. d'animal (1943).

La même année, Fournel et Bovet [*45*] administrent à des lapins 1 mg. de dicoumarine par kg. d'animal, puis leur donnent de la vitamine K à raison de 2,5 à 7 mg. par kg. en répartissant les doses sur 5 jours à partir de la chute maxima de la prothrombinémie. Ils ne constatent aucun effet correctif.

La même expérience chez le Chien a donné également des résultats négatifs. Déjà Bingham, Meyer et Pohle [*8*] avaient signalé en 1941 l'inactivité de la vitamine K synthétique sur le temps de coagulation du Chien artificiellement prolongé à l'aide de la dicoumarine.

Pour Meunier et Mentzer [*80*], qui ont repris récemment l'étude de cette question, l'action de la dicoumarine peut être corrigée chez le Lapin par administration de corps doués d'activité vitaminique K : *seule la posologie réglerait cette action.*

Chez l'Homme, on enregistre également des résultats différents selon les auteurs.

(12) Synkavit = 2. méthyl — 1-4 disuccinylnaphtohydroquinone.

Bingham et ses collaborateurs [*8*] nient tout pouvoir correcteur à la vitamine K. Il en est de même pour Meyer [*83*].

Varancot [*116*] est également de cet avis.

Au contraire, Lehmann signale des résultats satisfaisants par administration de doses massives de vitamine K (1943).

D'après Von Kaulla [*57*], l'absorption *per os* de 100 à 200 mg. de vitamine K provoque dans certains cas une augmentation de la prothrombinémie d'une durée de 12 à 14 heures, suivie d'une nouvelle chute.

Olivier et Mattéi (1945) disent obtenir un bon effet correctif en associant l'adrénaline à la vitamine K par voie intramusculaire [*90*].

D'autres antidotes ont été proposés.

Davidson et Mac Donald [*30*] utilisent l'oxyde de vitamine K à dose massive (jusqu'à 250 mg.). Selon eux, il empêche ou inverse chez l'Homme l'hypoprothrombinémie due à la dicoumarine.

Des travaux de Overman [*92*] ont montré la possibilité d'enrayer l'action de petites doses uniques de dicoumarine chez le Lapin en fournissant à l'animal des acides ménadione et ascorbique à dose élevée. La ménadione (13) par elle-même est active et, chez quelques lapins, l'acide ascorbique seul s'est montré antagoniste de l'agent toxique du mélilot gâté.

Mac Ginty [*76*] a proposé en 1942 de pratiquer des injections intra-veineuses de prothrombine purifiée. Il signale des résultats intéressants. Von Kaulla [*58*] note l'action corrective de 1 à 2 d'acétylcholine.

Enfin, dans une publication récente (1944), Field, Larsen, Spero et Link [*44*] mentionnent l'hyperprothrombinémie provoquée chez le Chien, le Lapin et le Rat par l'absorption *per os* de théophylline, de théobromine et de caféine; elle serait, d'après eux, susceptible de neutraliser l'hypoprothrombinémie provoquée par la dicoumarine.

Nous avons pratiqué quelques essais de correction de l'hypoprothrombinémie due à la dicoumarine, soit au moyen de vitamine K (14) en solution huileuse, buvable ou injectable, soit à l'aide d'injection intra-veineuse de thrombine purifiée.

Nous ne les rapportons pas ici, étant donné leur trop petit nombre et leurs résultats déconcertants.

De tout ceci, il ressort que la méthylène-bis-oxycoumarine demeure encore une médication dangereuse à employer, car si nous sommes maintenant fixés sur les modalités de son action anticoagulante, il nous est encore difficile de parer aux accidents qu'elle peut provoquer.

(13) La menadione est une vitamine K synthétique.
(14) K. Thrombyl.

CONCLUSIONS

La coagulation sanguine se présente comme un phénomène très complexe dont le mécanisme intime n'est pas encore entièrement expliqué. Le sang contient, outre des substances anticoagulantes qui préviennent normalement la coagulation intravasculaire, quatre éléments dont l'interréaction, selon la théorie de MORAWITZ, est la suivante :

En présence d'ions CA^{++}, la *THROMBOPLASTINE* agit sur la *PROTHROMBINE* pour l'activer en thrombine, celle-ci transforme alors le *FIBRINOGENE* en fibrine.

La vitamine K intervient par ailleurs dans la synthèse de la prothrombine par l'organisme.

L'étude des troubles de la coagulation sanguine est d'un grand intérêt pratique, car ils s'inscrivent dans le tableau clinique de certaines maladies et qu'ils sont responsables d'accidents post-opératoires plus ou moins importants.

Le facteur le plus souvent responsable des troubles hémorragiques demeure la prothrombine, aussi de très nombreuses méthodes ont-elles été étudiées pour l'évaluation de son taux dans le sang. Nous avons consacré un chapitre de ce travail à l'étude de quelques-unes d'entre elles.

Nous proposons ici une méthode qui, en plus du simple dosage de la prothrombine (la technique employée étant celle de QUICK ou une micro-méthode dérivant de celle de PLUM et LARSEN) tient compte des autres facteurs de la coagulation et en particulier de la teneur du plasma en fibrinogène.

VOICI LES RÉSULTATS DE SON EMPLOI :

a) Chez l'*adulte normal*, à jeun, où prothrombinémie et temps de coagulation paraissent être des constantes biologiques variant peu d'un individu à l'autre et relativement stables chez un même sujet.

b) Chez la *femme enceinte*, où nos résultats attestent une hyperprothrombinémie et une hyperfibrinémie, la courbe traduisant la cinétique de la coagulation étant un peu différente de celle d'un sujet normal.

c) Dans trois états pathologiques accompagnés de troubles de la crase sanguine.

— *ictères*, hypoprothrombinémie variable avec la gravité du cas; fibrinémie élevée si l'origine est mécanique, diminuée s'ils sont de nature infectieuse; courbes de deux types dont l'un très différent de la normale dans le cas de fibrinopénie.

— *hémophilie*, prothrombinémie et fibrinémie sont normales, mais l'allongement considérable du temps de coagulation entraîne une modification profonde de la courbe photométrique.

— *tuberculose*, pulmonaire hémoptoïque, variations peu élevées, courbes sensiblement normales.

d) Dans l'*hypoprothrombinémie* provoquée par l'emploi de dicoumarine — substance utilisée en thérapeutique contre les thromboses vasculaires — dosages et courbes nous ont permis d'apprécier les doses à administrer de ce produit pour maintenir la prothrombinémie au-dessous de 40 pour 100 de son taux normal. Une dose initiale de 1 cg. par kg. de poids corporel, suivie de doses plus faibles ultérieures en fonction des résultats paraît être la plus favorable.

Bien que nous n'avons jamais observé d'accidents, le produit n'est pas sans danger et son emploi demande un contrôle biologique constant.

La méthode que nous proposons permet donc de déceler les troubles latents de la coagulation. La micro-méthode paraît permettre avec un désagrément minime pour le malade une étude régulière des variations de la prothrombinémie à l'aide de dosages « en série ». La courbe électrophotométrique revêt des aspects variables susceptibles d'éclairer des faits cliniques accompagnés de chiffres normaux de prothrombinémie.

Vu :
le Doyen de la Faculté
de Pharmacie de Paris,
Paris, le 29 juin.
A. Damiens.

Vu et permis d'imprimer :
le Recteur
de l'Académie de Paris,
G. Roussy.

BIBLIOGRAPHIE

NOTA : Les numéros de la colonne de gauche sont placés entre crochets dans le texte à côté des mémoires cités. Les chiffres de la colonne de droite renvoient aux pages du texte où se trouve mentionné le travail ou l'auteur.

		Pages
1	ACHARD (Ch.) et BINET (L) : Technique pour mesurer le temps de coagulation. — *C.R. Soc. Biol.*, 1917, **80,** 845-846	**26**
2	ADAMS (W.) : Zur Methode der Bestimmung der Prothrombingehaltes nach Quick. — *Z. ges. exp. Med.* 1941, **109,** 707-714	18
3	ALLEN (E.-V.), BARKER (N.-W.), WAUGH (I.-M.) : A preparation from spoiled sweet clover (3-3' méthylène bis 4 hydroxycoumarine) which prolongs coagulation and prothrombin time of the blood : a clinical study. — *J.A.M. Ass.* 1942, **120,** 1009-1015	91
4	ASTRUP (T.) : Biochemistry of blood coagulation. — *Acta physiol. scand.*, 1944, **7,** 1-121	14
5	ASTRUP (T.), DARLING (A.) : Contributions to the chemistry of prothrombin. — *Acta physiol. scand.*, 1943, **5,** 97-102	17
6	BAUER (G.) : *Deut. med. Woch.*, 1941, **65**, 595. In *Le Sang*, 1943 (sept.-oct.), **15**	76
7	BERTRAND (I.), QUIVY (D.) : Evaluation graphique d'un excès de substances anticoagulantes dans le plasma. — *Pres. med.*, 1945, **53,** 548-549	21-22
8	BINGHAM (J.-B.), MEYER (O.-O.), POHLE (F.-I.) : Studies on the hemorragic agent (3-3' méthylène bis 4 hydroxy-coumarin). — *Am. j. med. Sciences*, 1941, **202,** 563-578	81-82-91-92-93
9	BLOCH (M.) : La coagulabilité sanguine Mesure clinique. — *Thèse médecine Paris*, 1914,	26
10	BLOCH (M.) : Mesure clinique de la coagulabilité sanguine. *J. méd. Français*, 1922, **11**, 9-11	26
11	BOLLMAN (J.-L.), PRESTON (F.-W.) : The effects of experimental administration of discoumarin (3-3' méthylène bis 4 hydroxycoumarin). — *J. am. med. ass.*, 1942, **120,** 1021-1025	82
11	*bis* BORGSTROM (S.) : *Acta chirurgica scand.*, 1944, **90,** 419-430. In *Presse med.*, 1946, **54,** 297	18

Pages

12 BOUVRAIN (M.-Y.) :
A propos de l'action anticoagulante de la méthylène bis hydroxycoumarine. *Soc. Française de Biol. clin.*, 1945, **22** 82

13 BOUVRAIN (M.-Y.) :
L'action anticoagulante des dérivés de la dicoumarine. — *Press. méd.*, 1945, **53**, 420-422 82

13 *bis* BRUZELIUS (S.) :
Dicoumarin clinical use : Studies on its prophylactic and therapeutic value in the theatment of thrombo-embolism. — *Acta chirurgica scand.*, 1945, **92**, 219 pages 81

14 BUTSCH (W.-L.), STEWART (J.-D.) :
Clinical experiences with dicoumarin, 3-3' méthylène bis 4 hydroxycoumarin. — *J. amer. med. ass.*, 1942, **120**, 1025-1026 82

15 BUTT (H.-R.), ALLEN (E.-V.), BOLLMAN (I.-L.) :
Proc. staff. Mert. Mayo. clin. 1941, **16**, 388. In Bingham (I.-B.), Meyer (O.-O.), Pohle (F.). — *Am. J of med. Sc.*, 1941, **202**, 563-578 82

16 CACHERA (R.) :
Syndromes hémorragiques par trouble de la coagulation du sang. Essai de classification. — *Paris médical*, 1941, **49**, 297-309 21

17 CAMPBELL (H.-A.), ROBERTS (W.-L.), SMITH (W.-K.), LINK (K.-P.) :
Studies on the hemorragic sweet clover disease I. The preparation of hemorragic concentrates. — *J. of biol. chem.*, 1940, **136**, 47-55 80

18 CAMPBELL (H.-A.) :
J. of biol. chem., 1941, **138**, 1. In Quick (A.-I.). — *Physiol. Rev.*, 1944, **24**, 297-318 92

19 CAROLI (I.), LAVERGNE (H. et B.), BOSE (B.) :
Hémorragies des hépatiques; taux de prothrombine et vitamine K. *Paris méd.*, 1939, **29**, 75-85 71

20 CHARGAFF (E.) :
Tromboplastic activity of tissue phosphatides. — *J. biol. chem.*, 1944, **156**, 387-399 16

21 CHARGAFF (E.), BENDICH (A.), COHEN (S.-S.) :
Thromboplastic protein; structure, properties, desintegration. — *J. biol. chem.*, 1944, **156**, 161-178 16

22 CHEYMOL (J.) :
Vitamines K. — Vitamines antihémorragiques. — *Revue scientif.* Paris, 1942, **80**, 117-127 18

23 CHEVALLIER (P.), GUILLOT (M.), FIEHRER (A.) :
Etude photographique de la coagulation du plasma sanguin. — *Bull. Acad. méd. Paris*, 1945, **129**, 352-354 44

24 COHEN (S.-S.), CHARGAFF (E.) :
Studies on the chemistry of blood coagulation IX the thromboplastic protein from lungs. — *J. biol. chem.*, 1940, **136**, 243-256 16

25 CONSTANTINESCU (M.-N.), VASILIU (C.) :
Beiträge zur Vitamin K. Behandlung in der Chirurgie. — *Z. ges. exp. med.*, 1943, **112**, 189-191 19

26 COPLEY (A.-L.) :
On the thromboplastic activity of brain and skin extracts. — *Amer. J. physiol.*, 1942, **137**, 178-186 50

27 CORNEC (E.), COTTET (E.) :
Appareil pour la mesure de la solubilité. — *Caliche*, 1924, **6**, 247. In Dolique (R.). — *Bull. Soc. Pharm. Montpellier*, 1944, **3**, 55-62 47

28 CRAWFORD (T.), NASSIM (I.-R.) :
Unusal response to dicoumarol therapy. — *Lancet*, 1944, **247**, 404-405 84

29 DAM (H.), GLAVIND (I.) :
The clotting power of human and mammalian blood in relation to vitamin K. — *Acta med. scand.*, 1938, **98**, 108-127 28-31-38-50

Pages

30 DAVIDSON (C.S.), MAC DONALD (H.) :
A critical study of the action of 3-3' méthylène, bis 4 hydroxycoumarin (dicoumarin). — *Amer. J. med. Sci.*, 1943, **205**, 24-33 93

31 DELCOURT (I.) :
A propos du temps de coagulation. — *Ann. biol. clin.*, 1945, **3**, 176-178 45

32 DONHOFFER (S.), GRENIER (H.), MESKO (K.) :
Uber die Gerinnung Storung im Ikterus. — *Z. ges. exp. Med.*, 1942, **110**, 315-329 70

33 DYCKERHOFF (H.), WICK (M.) :
Uber die Thromboprophylaxie durch Verminderung der intravasalen Gerinnungs fahigkeit des Blutes. — *Z. ges. exp. Med.*, 1943, **112**, 309-319 79

34 FACQUET (J.), SASSIER (R.), KISCH (R.) :
Action de la Dicoumarine (3-3' méthylène-bis-4 hydroxycoumarine sur la prothrombinémie et la coagulation plasmatique chez l'adulte normal. — *C.R. Soc. de Biol.*, 1945, **139**, 262-263 83

35 FEISSLY (R.) :
Nouvelles études sur l'hémophilie. I. Séparation des facteurs plasmatiques intervenant dans la formation de la thrombine. — *Acta med. helv.*, 1941, **8**, 823-833 ..... 16 75

36 FEISSLY (R.) :
Considérations sur les méthodes de mesure de vitesse de la coagulation sanguine. — *Schweiz. med. Woch.*, 1942, **72**, 648-650 43

37 FEISSLY (R.) :
Nouvelles études sur l'hémophilie. II. Rôle des albumines plasmatiques dans la formation de la thrombine. — *Acta med. helv.*, 1944, **11**, 177-197 ..... 49 75

38 FEISSLY (R.) :
Nouvelles études sur l'hémophilie. III. Contribution à l'étude des anomalies du plasma sanguin. — *Acta med. helv.*, 1945, **12**, 467-475 75

39 FEISSLY (R.) :
Recherches sur la prothrombine. — *Journ. med. helv.*, 1945, **75**, 696-699 17

40 FEISSLY (R.)
Recherches sur la nature et l'origine de la thrombokinase plasmatique. — *Acta med. helv.*, 1945, **12**, 215 16

41 FERGUSON (I.-H.), GLASKO (A.-I.) :
Heparin and natural antiprothrombin in relation to activation and « essay » of prothrombin. — *Am. J. Physiol.*, 1941, **134**, 47-53 20

42 FERGUSON (I.-H.) :
Coagulation of crystallin trypsine, cephalin and lung extract. — *Amer. J. physiol.*, 1939, **126**, 661-669 16

43 FIECHTER (N.) :
Eine mikromethode zur Bestimmung der Prothrombinzeit. — *Schweiz. med. Woch.*, 1940, **12**, 259 33

44 FIELD (J.-B.), LARSEN (E.-G.), SPERO (L.), LINK (K.-P.) :
Studies on the hemorrhagic sweet clover disease XIV hyperprothrombinemia induced by methylxanthines and its effect on the action of 3-3' méthylène-bis-4 hydroxycoumarin. — *J. biol. chem.*, 1944, **156**, 725-737 93

45 FOURNEL (J.), BOVET (D.) :
Action de la méthylène-bis-oxycoumarine sur la prothrombine sanguine. — *Bull. soc. chim. biol. Paris*, 1943, **35**, 390-392 92

46 GAUTIER (R.) :
Standardisation biologique. Héparine. — *Bull. de l'organisation d'hygiène*, 1945-1946, **12**, 48-50 22

Pages

47 GRUNING (W.) :
Zur Frage der chiemischen Natur des Antithrombins. — *Pfug. Arch. ges. Physiol.*, 1943 **247**, 292-309 21

48 GUILLAUMIN (C.-O.) :
A propos de la mesure de la prothrombine plasmatique par l'électrophotomètre. — *Ann. biol. clin.*, 1943, **1**, 163-166 42

49 HARNAPP (G.-O.) :
Calcium und Blutgerinnung. — *Meschr. Kinderheilk.*, 1944, **94**, 150-163 15

50 HUEBNER (C.-F.), LINK (K.-P.) :
Studies on hemorrhagic sweet clover disease; synthesis of diketone derived from hemorrhagic agent through alkaline degradation. — *J. biol. chem.*, 1941, **138**, 529-534 81

51 JANSEN (K.-F.), JENSEN (K.-M.) :
Uber die Konstitutionsspezifitat der hammorrhagischen Wirkung von 3-3' méthylène-bis-4 oxycumarin — *Z. physiol. chem.*, 1942, 66-73 81

52 JAQUES (L.-B.)
The reducing proporties of fibrinogen. — *Biochem. I*, 1943, **37**, 344-349 15

53 JAQUES (L.-B.), DUNLOP (A.-P.) :
The effect of calcium concentration on the prothrombin time of dogs treated with dicumarol. — *Am. J. Physiol.*, 1945, **143**, 355-360 81

54 JEANNERET (H.) :
Contribution à l'étude de l'action anticoagulante de la dicoumarine synthétique sur l'organisme humain. — *Schweiz. med. Woch*, 1944, **74**, 696-700 82

55 JORPES (I.-E.) :
Zur Chemie des Heparins. — *Z. Physiol. Chem.*, 1943, **278**, 7-16 .. 22

57 KAULLA (K.-N. von) :
Uber kunstliche Hypoprothrombinamie und ihre therapeutischen Anwendungsmoglichkeiten. — *Klin. Woch.*, 1943, **22**, 205-208 ..... 78, 81, 82, 92, 93

58 KAULLA (K.-N. von) :
Uber Hyperprothrombinamie. — *Klin. Woch.*, 1943, **22**, 646-648 ..... 67, 92, 93

59 KAZAL (L.-A.), ARNOW (L.-E.) :
Gorse brain thromboplastin as a reagent for the quantitative determination of prothrombin. — *Arch. biol.*, 1944, **4**, 183-194 49

60 KEICHEL (C.) :
Untersuchen uber Blutthrombokinase. — *Klin. Woch.*, 1942, **21**, 1081-1082 16

61 KLOSTERMEIER (H.) :
Uber die Einwirkung des als Thrombose prophylacticum empfohdenen Neodymacetats (Preparat « Parathrodym ») auf Blut Herz und Kreislauf des Menschen. — *Z; ges. exp. Med.*, 1942, **110**, 555-563 79

61 *bis* KORNBERG (A.), DAFT (F.-S.), SEBRELL (W.-H.) :
Production of vitamin K deficiency in rats by various sulfonamides. — *Publ. Hlth. Rep. Washington*, 1944, **59**, 832-844 79

62 KUGELMASS (I.-N.) :
Arch. Intern. de Physiol., 1923 **21**, 139. In Lian (C.), Frumusan (P.), Sassier (R.), *Le Sang*, 1939, **13**, 817-832 ..... 28, 40, 71

63 LAVERGNE (H.), LAVERGNE-POINDESSAULT (B.) :
Technique de dosage de la prothrombine. — *Cr. R. Soc. biol.*, 1942, **136**, 445-446 ..... 28, 37, 54

64 LAVERGNE (H.), LAVERGNE-POINDESSAULT (B.) :
Valeur de quelques techniques de dosage de la prothrombine. — *Paris médical*, 1945, **35**, 120-124 28

Pages

65 LEHMANN (I.) :
Eine Modifikation der Prothrombinzeibestimmungs methode nach Quick. Mikro und Makroverfahren. — *Monatschrift f. Kinderheilk,* 1941, **86,** 44-48 32

66 LEHMANN (I.) :
Hypo prothrombinemia produced by 3-3' methylene-bis-4-hydroxy-coumarin and its use in the treatment of thrombosis. — *Science,* 1942, **96,** 345-346 81

67 LEHMANN (L.) :
Effect of coumarin and dicoumarin derivatives on prothrombin level. — *Lancet,* 1943, **244,** 458-459 81

68 LEHMANN (I) :
Thrombosis, treatment and prevention with methylene-bis-hydroxycoumarin. — *Lancet,* 1943, **244,** 611-613 ..... 82 91

69 LETARD (H.) :
Les troubles de la coagulation sanguine du sang par déficience en prothrombine et en thromboplastine. — *Thèse médecine Paris,* 1941 **102** 49

70 LETARD (H.) :
Contribution à l'étude des propriétés et de la nature de la thromboplastine. — *C.R. Soc. Biol.,* 1941, **135,** 203-205 49

71 LIAN (C.), SASSIER (R.), FACQUET (J.), FRUMUSAN (P.) :
Le dosage pondéral de la fibrinémie. — *Bull. et mémoires de la Soc. méd. des Hôp. Paris,* 1936, **14,** 598-603 ..... 54, 62, 65, 70 77

72 LIAN (C.), FRUMUSAN (P.), SASSIER (R.) :
Méthode optique pour l'étude de la coagulation sanguine. Technique et résultats. — *Le sang,* 1939, **13,** 817-832 ..... 15, 28 40

73 LIAN (C.), SASSIER (R.), HURET (G.) :
La coagulation du sang. Etude thrombographique. — *Presse méd.,* 1942, **50,** 491-492 41

74 LINK (K.-P.), OVERMAN (R.-S.), SULLIVAN (W.-R.), HUEBNER (C.-F.), SCHEEL (L.-D.) :
Studies on the hemorragic sweet clover disease XI hypoprothrombinemia in the rat induced by salicylic acid. — *J. Biol. chem.,* 1943, **147,** 463-474 79

75 LOOMIS (E.-C.), SEEGERS (W.-H.) :
Purified prothrombin : factors which influence its activation. — *Arch. Biochem.,* 1944, **5,** 262-271 ..... 17 93

76 MAC-GINTY (D.-A.)
Sciences, 1942, **96,** 540. In Quick (A.-T.). — *Physiol. Rev.,* 1944, **24,** 297-318 20

77 MANSTEIN (B. von) :
Die Erkennung von Fernthrombosen durch die thrombinabbaureaktion. — *Deut. med.; Woch.,* 1943, **69,** 104-106 ..... 14 23

78 MAURIC, DURUPT, GORNY :
Analyse photométrique de la coagulation. — *Bull. soc. chim. biol., clin.,* 1944, **2,** 186-191 ..... 42 49

79 MOREAU (R.), SOULIER (J.-P.) :
Analyse phootmétrique de la coagulation. — *Bull. soc. chim. biol.,* 1940, **22,** 529-538 ..... 28 41

80 MEUNIER (P.), MENT7ER (Ch.) :
Essai des produits antihémorragiques sur le lapin atteint de la maladie du Mélilot gâté. — *Bull. soc. chim. biol.,* 1942, **24,** 371-375 92

81 MEUNIER (P.) :
La coagulation plasmatique étudiée à l'électrophotomètre. — *Ann. biol. clin.,* 1943, **1,** 155-162 ..... 42 58

82 MEUNIER (P.), RAOULT (Y.) :
Diagnostic chimique des avitaminoses. *Masson et Cie Editeurs, Paris,* 1942, 182 pages 58

Pages

83 MEYER (O.-O.), BINGHAM (I.-B.), AXELROD (V.-H.) :
Studies on the hemorragic agent 3-3' methylène bis-4-hydroxy-coumarin II. The method of administration and dosage. — *Amer. J. Med. Sci.*, 1942, **204**, 11-21 93

84 MEYER (O.-O.), HOWARD :
Proc. soc. exp. biol., 1943, 53, 245; In QUICK (A.-I.). — *Physiol. Rev.*, 1944, **24**, 297-318 79

85 MIKHLIN (P.-M.) :
Vitamin K_3, an antihaemorrhage. — *C.R. Acad. Sci. U.R.S.S.*, 1942, **37**, 191-192 20

86 MOREAU (R.), SOULIER (J.-P.) :
Variations du taux de prothrombine chez l'adulte. — *Paris Med.*, 1945, **23**, 253-255 63

87 MORHARDT (P.-E.) :
La vitamine K et ses applications thérapeutiques. — *Presse Méd.*, 1941, **49**, 816-818 18

88 MOULINIER (E-I.) :
Pompe à ruban sans fin permettant les transfusions semi-lentes de sang pur. — *Thèse médecine Paris*, 1942, 72 pages 79

89 NOLF (P.) :
De quelques travaux récents sur la physiologie de la coagulation du sang. — *Le sang*, 1936, **10**, 257-278 13

90 OLIVIER (C.), MATTEI (M.) :
Action anticoagulante d'un dérivé de la coumarine. Application aux phlébites. — *Presse Méd.*, 1945, **53**, 83-84 ..... 93, 82

91 ONEAL (W.-I), LAM (C.-R.) :
Experiments on components A and B (QUICK) of prothrombin. — *Amer. J. Med. Sci.*, 1945, **210**, 181-184 18

92 OVERMAN (R.-S.), STAHMAN (M.-A.), LINK (K.-P.) :
Studies on the hemorragic sweet clover disease VIII The effect on 2 methyl-1-4-naphtoquinone and 1-ascorbic acid upon the action of 3-3' methylene-bis-4-hydroxycoumarin on the prothrombin time of rabbits. — *J. Biol. Chem.*, 1942, **145**, 155-162 ..... 92, 93

93 PLUM (P.), LARSEN (H.) :
Uber Prothrombinbestimmungen. — *Z. Klin. Med.*, 1941, **139**, 666-684 ..... 16, 17, 28, 30, 50

94 PORTES (L.), VARANGOT (J.) :
Contribution à l'étude des carences en vitamine K dans leur rapport avec la puerpuéralité. — *Presse Méd.*, 1941, **49**, 812-814 ..... 42, 60, 67

95 QUICK (A.-I.) :
A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. *Amer. Journ. Med. Sci.*, 1935, **190**, 501-511 ..... 28, 30

96 QUICK (A.-I.) :
The thromboplastin reagent for the determination of prothrombin. — *Sciences N.-Y.*, 1940, **92**, 113-114 ..... 30, 50

97 QUICK (A.-I.) :
The anticoagulants effective in vivo with special reference the heparin and dicumarol. — *Physiol. Rev.*, 1944, **24**, 297-318. 21, 81, 84, 91

98 QUIVY (D.) :
Evaluation de l'héparine in vitro. — *Thèse sciences Paris*, 1945, 89 pages 22

99 RAPOPORT (S.), WING (M.), GUEST (G.-M.) :
Proc. Soc. exp. biol. med., 1942, **50**, 237. In QUICK (A.-I.). — *Physiol. Rev.*, 1944, **24**, 297-318 79

100 RAVINA (I.) :
Traitement préventif et curatif des thromboses par abaissement du taux de prothrombine sanguine. — *Sem. Hôp. Paris*, 1945, **21**, 254-257 82

Pages

101 REICHEL (Ch.) :
Untersuchungen uber Blutthrombokinase. — *Klin. Woch.*, 1942, **21**, 1081-1082 14

102 RODERICK (L.-M.) :
J. Am. Vet. Med. Ass., 1929, **74**, 314-326. In BINGHAM, MEYER, POHLE. — *Am. J. Med. Sc.*, 1941, **202**, 563-578 ..... 80, 82

103 ROVATTI (B.) :
Uber die Prothrombinzeitbestimmung im Menschenblut. — *Z. ges. exp. med.*, 1942, **111**, 385-394 ..... 32 51

104 SANFORD (H.-N.), SHMIGELSKY (I.) :
Is the presence of bile and food in the small intestine necessry for the formation of prothrombin? Studies on three infants, one with congenital abscence of the gall blader and extrahepatic ducts and two with congenital atresia of the œsophagus. — *Am. J. Dis. Child.*, 1942, **63**, 894-899 ..... 19, 70

105 SEEGERS (W.-H) :
Purification of prothrombin and thrombin chemical properties of purified preparations. — *J. biol. chem.*, 1940, **136**, 103-111..... 17

106 SEEGERS (W.-H.), SMITH (W.-K.) :
Factors which influence the activity of purified prothrombin. — *Amer. J. physiol.*, 1942, **137**, 348-354 17

107 SHAPIRO (S.) :
Proc. soc. exp. biol. med., 1943, 52, 12. In QUICK (A.-I.). — *Physiol. Rev.*, 1944, **24**, 297-318 81

108 SHAPIRO (S.) :
Studies on prothrombin : Effect of synthetic vitamin K on the prothrombinopinia induced by salicylate in man. — *J. Am. Med. Ass.*, 1944, **125**, 546-548 79

109 SOULIER (J.-P.) :
Nouvelle micro-méthode de dosage de la prothrombine du sang. — *Thèse médecine Paris*, 1944, 184 pages 33

110 SPOONER (M.), MEYER (O.-O.) :
J. Lab. Clin. Med., 1945, **30**, 350 79

111 STAHMANN (M.-A.), HUEBNER (C.-F.), LINK (K.-P.) :
Studies on hemorragic sweet clover disease; identification and syntheses of hemorragic agent. — *J. Biol. Chem.*, 1941, **138**, 513-527 80

112 SZECSENYI-NAGY (L. von) :
Gravimetrische Fibrinogenbestimmung im Blute. — *Bioch. Zeitsch.*, 1944, **317**, 185-186 15

113 THORDARSON (O.) :
A method for quantitative determination of prothrombin in plasma. — *Acta Med. Scand.*, 1940, **104**, 291-304 ..... 28, 35, 51

114 THORDARSON (O.) :
Klin. Woch., 1941, **20**, 572-574 67

115 THORDARSON (O.), BEGTRUP (H.), HANSEN (P.-F.) :
A modification of Thordarson's method for the quantitative determination of prothrombin in plasma. A simpler mode of preparing the fibrinogen. — *Acta Med. Scand.*, 1943, **113**, 459-462 37

116 VARANGOT (J.), VASSY (S.) :
Etude expérimentale et clinique de l'action du dicoumarol sur les thromboses veineuses. — *Sem. Hôp. Paris*, 1946, **22**, 476-480.. 93

117 VIDAL (I.), IZARN (P.) :
a) Temps de coagulation et prothrombinémie au cours de la tuberculose pulmonaire. — *Montpellier Méd.*, 1945, **27-28**, 172-175;
b) La prothrombinémie et le taux du fibrinogène sanguin au cours de la tuberculose pulmonaire. — *Montpellier Méd.*, 1945, **27-28**, 175-176 77

Pages

118 WARNER (E.-D.), BRINKHOUS (K.-M.), SMITH (H.-P.) :
A quantitative study on blood clotting : prothrombin, fluctuations under experimental conditions. — *Amer. J. Physiol.*, 1936, **114**, 667-675 ..... 28, 34

119 WERNER (H.) :
Thrombopénie und Blutgerinnung. — *Deut. Med. Woch.*, 1943, **69**, 363-365 14

120 WIDENBAUER (F.) :
Uber das eiweissgebundene Calcium bei der Blutgerinnung. — *Klin. Woch.*, 1943, **22**, 320 ..... 14, 16

121 WIDENBAUER (F.) :
Beitrage zur Theorie der Blutgerinnung. — *Deut. Med. Woch.*, 1943, **69**, 749-750 ..... 14, 16, 50

122 WIDENBAUER (F.), REICHEL (C.) :
Untersuchungen uber die Thrombokinase des Blutes. — *Biochem. Zeitsch.*, 1942. **311**, 307-310 14

123 WIDENBAUER (F.), REICHEL (C.) :
Die Bedeutung der Kohlensaure bei der Blutgerinnung. — *Klin. Woch.*, 1942, **67**, 305-321 14

124 WRIGHT (I.-S.), PRANDONI (A.) :
The dicoumarin, 3-3' methyline-bis-4-hydroxycoumarin, its pharmacologic and therapeutic action in man. — *J. Am. Med. Ass.*, 1942, **120**, 1015-1020 ..... 79, 81

125 ZUCKER (H.-D.) :
Clinical experiences with dicumarol. — *J. Am. Med. Ass.*, 1944, **124**, 217-219 82

TABLE DES MATIERES

Pages

Introduction 11

CHAPITRE I. — Théorie de la coagulation 13

Calcium 14
Fibrinogène 15
Thromboplastine 16
Prothrombine 17
Vitamines K 18
Antithrombine 21
Héparine 21

CHAPITRE II. — Méthodes d'étude de ce phénomène 24

Technique des lames 24
» des tubes 25
» des capillaires 25
» Achard et Binet 26
» Marcel Bloch 26

A. — Techniques dans lesquelles la variable est le temps 30
1° Technique de Quick 30
2° » de Plum 30
3° » de Rovatti 32
4° » de Lehmann 32
5° » de Fiechter 33
6° » de Soulier 33

B. — Techniques dans lesquelles la variable est la dilution de plasma 34
1° Technique de Warner, Brinkhous et Smith..... 34
2° » de Thordarson 35
3° » de Lavergne 37

C. — Techniques avec concentration en thromboplastine variable 38
1° Technique pour le sang d'oiseau 38
2° » pour le sang humain 38

Pages

D. — Etude photométrique de la coagulation en vue du dosage de la prothrombine 40
1° Technique de Lian, Frumusan et Sassier 40
2° » de Meunier et Dreyfus 41
3° » de Mauric, Durupt et Gorny 42
4° » de Feissly 43
E. — Etude photographique de la coagulation 44
Technique de Chevallier, Guillot et Fiehrer 45

CHAPITRE III. — Méthode adoptée pour l'étude de la coagulation 46
1° Matériel 46
2° Réactifs 48
3° Thromboplastine 49
4° Mode opératoire 54

A. — Pour le sang veineux 54
a) Fibrine 54
b) Examen photométrique 55
c) Dosage de la prothrombine 55

B. — Pour le sang capillaire 57
5° Critique de cette méthode 58

CHAPITRE IV. —Résultats obtenus 63

A. — Adultes normaux 63
B. — Grossesse 66
C. — Quelques cas pathologiques 67
C. — Quelques cas pathologiques 69
1° Ictère 69
2° Hémophilie 74
3° Tuberculose pulmonaire 76

CHAPITRE V. — Application de notre méthode à l'étude de l'hypoprothrombinémie artificielle 78
Le Dicoumarol 79
1° Historique 79
2° Action générale 81
3° Travaux personnels 83
4° Les antidotes de la dicoumarine en cas d'accidents hémorragiques 91

Conclusions 95

Index bibliographique 97